

ポスター PA

物質循環

J PA-071 森林集水域の地下水帯における脱窒活性と脱窒細菌群集構成

○勝山 千恵^{1,2}, 永翁 一代², 大手 信人³, 山岸 昂夫⁴,
諏訪 裕一¹, 加藤 憲二²

¹中央大・理工, ²静岡大・理, ³東大・院農, ⁴産総研

Key Word : denitrification, forest aquifer, ¹⁵N tracer, *nirK/nirS*

森林由来の地下水は富栄養化を引き起こす硝酸態窒素 (NO_3^- -N) と温室効果ガスである亜酸化窒素 (N_2O) の発生源であるが、発生源を左右する脱窒微生物の群集構成は明らかにされていない。滋賀県大津市ヒノキ・マツ混交林集水域の地下水帯の脱窒活性と、活性を担う細菌群集構成の解析を試みた。集水域末端地点の取水深度が地表から130cmおよび250cmの採水井戸から地下水を採取した。250cm地下水のDO ($0.23-2.94\text{mg O}_2/\text{L}$) は、130cm地下水のDO ($2.15-9.19\text{mg O}_2/\text{L}$) より低い傾向があり、酸化還元条件に違いがあることが示唆された。地下水試料に¹⁵N標識した NO_3^- を試料中と同じレベルの濃度 ($50\mu\text{M}$) で添加後、嫌気条件にて培養した。¹⁵N標識された N_2 および N_2O の生成をGC/MSによって経時的に定量し、脱窒活性を測定した。地下水帯からtotal community DNAを抽出し、亜硝酸還元酵素遺伝子 (*nirK*, *nirS*) のクローニングシーケンス解析を行い、脱窒細菌群集の構成を調べた。脱窒活性は130cmよりも250cmの地下水において高く、しかも産物は専ら N_2 であった。一方、130cmの地下水の脱窒では N_2O の蓄積がしばしばみられた。さらに、 NO とみられるピークも検出され、現在確認中である。この結果は、 NO_3^- および N_2O の濃度と同位体比から環境条件と脱窒を関連づけた先行研究と併せて、浅い地下水帯よりも深い地下水帯で N_2 までの脱窒が活発に起こり、集水域からの NO_3^- 流出と N_2O 放出を減少させる場となっている可能性を示唆する。さらに、優占OTUは同一の地点における130cmと250cmの間で様でなく、脱窒の中間産物の蓄積が、環境条件だけでなく、現存する脱窒細菌群集構成の違いによる可能性も示唆された。

J PA-073 *Siphonobacter* sp. THI313株の辛味ダイコン由来チオシアネート配糖体の分解とそれに伴うCOSの生成

○坂本 友希子¹, 関田 真奈¹, 高田 保孝¹, 片山 葉子¹,
芥川 一成², 千葉 一裕²

¹東京農工大・院農, ²東京農工大連農

Key Word : COS, glucosinolate, thiocyanate, Brassica

【目的】硫化カルボニル (以下COS) は大気中に約500 pptvの濃度で存在する気体状微量硫黄成分で、成層圏の硫酸エアロゾル層の起源物質の一つであり、COS発生源の調査が気候変動予測の観点から重要である。微生物によるCOS生成経路としては、チオシアネート (以下SCN) 加水分解酵素 (EC 3.5.5.8) によるものが明らかになっているが、SCNはアブラナ科植物の体内でSCN配糖体として存在することから、SCN配糖体の分解がCOS発生源となり得るかについて調べてきた。その結果SCN配糖体の一種であるシニグリンからCOSを生成する*Siphonobacter* sp. THI313株が分離された。今回はTHI313株が辛味ダイコン由来のSCN配糖体からCOSを生成するかどうかを調べた。

【方法】辛味ダイコンからSCN配糖体を精製し、ESI-TOFMSでその種類を同定した。THI313株の培養液にこのSCN配糖体を添加し、その分解とCOS生成の有無を調べた。

【結果と考察】辛味ダイコン由来の抽出液に含まれていたSCN配糖体は、*Siphonobacter* sp. THI313株によって分解され、COSが気相中に検出された。THI313株と同属である*Siphonobacter aquaeclarae* DSM21668、アブラナ科植物根圏から分離された*Rhizobium*属の細菌においても、SCN配糖体の分解とそれに伴うCOS発生がみられた。以上の結果から、SCN配糖体からCOSを生成する微生物が様々な環境に生息することが示唆された。

J PA-072 国内水田土壌からの異化的ヒ酸還元細菌の分離

○工藤 桂太郎¹, 天知 誠吾¹, 本間 瑛理²

¹千葉大院・園芸, ²千葉大・園芸

Key Word : arsenic, rice paddy, isolation, 16S rRNA gene, arsenate reduction

ヒ素は水田土壌中で主にヒ酸として存在し、フェリハイドライトなどの鉄鉱物に吸着する。湛水によりEhが低下すると、ヒ酸や鉄還元細菌などの作用によりヒ酸は亜ヒ酸に還元され可溶化する。日本では農作物からのヒ素の摂取において米の寄与が大きい。本研究では、国内水田土壌よりヒ酸還元細菌を初めて分離することを試みた。3種の土壌より酢酸を電子供与体とした嫌気集積系を作製し、複数回の植え継ぎ後、アガーシェイク法により3株 (OR-1株、SHIMR-1株、PSR-1株) のヒ酸還元細菌の分離に成功した。16S rRNA遺伝子に基づく系統解析の結果、これら3株はそれぞれ*Geobacter pelophilus* と 98 %、*Desulfitobacterium hafniense* と 98 %、*Anaeromyxobacter dehalogenans*と99%の相同性を示した。これら菌株の生育はヒ酸の還元と共役しており、 $\text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{HAsO}_4^{2-} + 2\text{H}_2\text{AsO}_4^- + 5\text{H}^+ \rightarrow 4\text{H}_3\text{AsO}_3 + 2\text{HCO}_3^-$ に従ったヒ酸呼吸を行うと推察された。電子受容体としてはヒ酸の他に硝酸や鉄の利用能も確認された。*Desulfitobacterium*属細菌によるヒ酸還元に関しては過去に報告があるが、*Anaeromyxobacter* 属については本研究が初めてである。また、*Geobacter*属細菌は東アジア地域の堆積物中からのヒ素溶出に関与すると考えられているが、これまでヒ酸還元能を有する菌株の分離例はなかった。OR-1株にはヒ酸還元酵素遺伝子 (*arrA*) の存在も確認されたため、今後微生物によるヒ素溶出メカニズムの解明に向けて重要なモデル生物になり得ると考えられる。本研究は農林水産省からの受託事業「生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減技術の開発 (ヒ素・カドミ) AC-1100」の一環として実施されたものである。

ポスター PA

その他

J PA-074 都市を流れる川の汚染と微生物の多様性

小島 紀幸, ○舩谷 悠祐, 東海林 和馬

東北学院中学校・高等学校

Key Word : water pollution, bacterial diversity, 16S RNA gene, PCR, T-RFLP

【目的】梅田川は仙台市内のほぼ中心部を流れ、七北田川と合流して太平洋に注ぐ河川である。梅田川には周辺市街地からの汚水の流入があり、水質悪化や環境汚染が懸念されてきた。そこで、水質と微生物叢 (特に細菌叢) の調査によって、梅田川の水環境の変化が微生物叢にどのような影響を及ぼしているのかを分析することを目的とした。

【準備と方法】梅田川流域において、上流や市街地中心部、中流域2地点、七北田川との合流点の計5地点を調査地点に設定し、水質調査の項目としてBOD, COD, SS, pH, 栄養塩類濃度を測定した。また、河川水から微生物のDNAを抽出し、PCR法により16S rRNA遺伝子の一部を増幅し、制限酵素にAluIまたはMspIを用いたT-RFLP法により、細菌類の多様性を解析した。

【結果と考察】すべての調査地点において、測定した項目に差がみられた。特に、上流から下流にかけてSS値と栄養塩類濃度が上昇していた。また、T-RFLP法による解析では、調査地点ごとにTRF (末端制限断片) の長さや量に違いがみられた。以上のことから、梅田川の水環境の変化が微生物の多様性に大きな影響をもたらしていることを理解することができた。

【謝辞】本調査は、科学技術振興機構 (JST) のサイエンス・パートナーシップ・プロジェクト (SPP) に採択され (採択番号:AG110530) 実施されたものであることを付記します。