論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※　　第　　号

氏　　名　山口　毅志

論　文　題　目

Accumulations of heavy metals in *Clethra barbinervis*
-characteristics and mechanisms-

（リョウブの重金属集積－特性とメカニズム－）

論文審査担当者

主　査	名古屋大学教授	竹中	千里
委　員	名古屋大学教授	前島	正義
委　員	名古屋大学准教授	山本	一清
委　員	名古屋大学助教	富岡	利恵

別紙1−2

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

リョウブ（ *Clethra barbinervis* Sieb.et Zucc.）はツツジ目リョウブ科リョウブ属の日本原産の落葉広葉樹である。Ni、Co、Cd、Mn、Zn などの重金属元素を高濃度に体内に集積する能力を持つことが明らかになっており、蛇紋岩地帯や鉱山跡地など土壌中の重金属濃度が高い地域でも生育する能力を持つ。しかしながら、これらの重金属の集積特性とそのメカニズムはほとんど明らかになっていない。特に、Ni と Co は植物における要求量は少ないことから、この両元素をなぜ高濃度に集積するのかは不明である。そこで本研究は、リョウブにおける Co、Ni を中心とした重金属の集積特性およびメカニズムを明らかにすることを目的としている。

本研究では、以下のような知見が得られている。

1）リョウブによる元素の吸収・輸送過程において、Co と Ni を識別しているかを明らかにするために、Co、Ni 処理液を用いた根圏分割処理実験を行い、各器官中の Co、Ni、S 濃度を測定した。その結果、片側処理・両側処理のどちらの条件においても、葉中に Co、Ni を高濃度に集積し、濃度に両処理間で違いが認められなかった。それらの結果を移行効率で評価すると、根では Co、Ni 間で有意差がなかったのに対し、葉では Co が Ni よりも有意に高いことが明らかとなった。また、Co 処理区でのみ、根・葉中の S 濃度が上昇した。これらの結果から、根の吸収においては Co、Ni で差がないものの、葉への輸送・集積過程においては、Co と Ni で異なることが示唆され、葉の Co 集積能力は Ni に対する能力よりも高く、その Co 集積には S が関与していることが明らかとなった。

2）リョウブによる Co と Ni の吸収・輸送・集積過程における両元素の競合関係および他重金属元素との競合関係を明らかにするために、3 段階に Co、Ni 濃度を調整した他重金属を含む栄養液を用いて根圏に単独・複合処理を行い、根・幹・葉の重金属濃度を測定した。その結果、リョウブは Ni よりも Co に対する耐性があり、Co の最高濃度は 2,012 μg g^{-1} だった。輸送過程において、Co は Zn 輸送と競合すると同時に Cu 輸送を刺激し、また、Ni は Zn 輸送と競合した。吸収過程においては、Co、Ni は Fe 吸収と競合した。これらの結果から、リョウブは Co 超集積植物であることが明らかとなり、Co の 超集積には Fe 吸収、Zn 輸送機構が関係する可能性が示された。

3）リョウブによる Co、Ni 集積における他重金属の関与を明らかにするために、根圏に複数の重金属処理を行い、各器官中重金属濃度への影響を調べた。実験 1 では Co、Mn 単独・複合処理、実験 2 では Co、Ni、Zn 単独複合処理を行った。結果として、Co 処理によって Cu、Mn 輸送促進が生じた一方で、Mn 処理濃度が増加すると Cu 輸送促進は消失した。また、根の吸収において Mn と Fe が競合した。また。Co、Ni、Zn 混合処理による重金属集積間の競合は確認されず、Co、Ni 処理による葉・幹中 Zn 濃度への影響は確認されなかった。このことから、Co、Ni と Zn との

競合は、Co、Ni が Zn 輸送機構を利用できることが原因であること、さらにリョウブは、Zn 輸送機構とは異なる Co、Ni に選択的な輸送機構を持つことが示唆された。以上の結果から、リョウブの重金属集積には、Co、Cu、Fe、Mn、Ni、Zn などに対して、選択性の低い複数の吸収・輸送システムが関わっており、濃度バランスによっては競合的な輸送形態をとるが、全体的に重金属濃度が高い場合は、その刺激により新たな輸送機構が発現することが推測された。

4）リョウブの葉における Co、Ni の分布と存在形態を明らかにすることを目的として、シンクロトロン光を用いた X 線分析を行った。また、葉中の元素濃度、有機酸濃度、硫酸濃度の化学分析を行い、X 線分析の結果を定量的に検証した。結果として、Co は葉の先端、Ni は葉縁に局在し、異なる葉内分布であった。XENES 分析と定量分析の結果から、細胞内で Co は硫酸をカウンターイオンとし、Ni はコハク酸、シュウ酸と錯体を形成している可能性が示された。また、Co 処理区で高濃度になった S の多くは硫酸として存在するが、葉の先端部表層では還元されてグルタチオンなどのチオール物質の合成が活性化し、高濃度の S の一部がストレス耐性に関与していることが示唆された。

5)リョウブにおける柔軟かつ広範な重金属の高濃度集積と葉における識別は、代謝における重金属間の競合や必須重金属元素の欠乏を防ぐことに役立ち、特に Co の超集積性はこれらの Mn や Zn などの必須重金属元素と特性が類似するため偶発的に進化した可能性が示された。

以上のように本研究は、リョウブの重金属蓄積において、Co 集積性という観点から新たな知見を見出しており、樹木における微量重金属の利用の柔軟性と生態的な意義に関して、興味深い説を提唱している。このような知見は、重金属汚染土壌における植生回復やファイトレメディエーションの可能性にも貢献する。このように本論文は、未だデータが少ない森林生態系における重金属元素の動態に関わる重要な知見を社会に発信するものと評価できる。よって、本審査委員会は、本論文の内容が博士（農学）の学位論文として十分に価値のあるものと認め、論文審査に合格と判定した。