

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

## 主 論 文 の 要 旨

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

論文題目 リョウブの重金属集積 ―特性とメカニズム―

氏 名 山口 毅志

## 論 文 内 容 の 要 旨

重金属は比重 4 以上の金属元素の総称である。植物栄養における必須の重金属元素は主に植物体内で酵素活性や酸化還元などを中心とする代謝機能に利用されるが、高濃度の重金属集積は生育に障害を及ぼす。したがって、自然環境における高濃度の重金属の存在は、その毒性からさまざまな影響を生態系に及ぼす。一方、蛇紋岩地質や鉱山跡地などの重金属が高濃度に存在する土壤に生育する植物には、重金属毒性に対して耐性を持ち、植物体地上部に重金属を高濃度に集積できる植物（集積植物）が存在する。集積植物は、重金属汚染地の緑化や土壤浄化へ利用できる可能性があり、その効果的な利用のために、集積植物の金属集積特性や集積メカニズムの解明が求められている。集積植物に関する従来の研究の多くは草本植物で行われているが、汚染地の状況や管理の問題から、重金属集積性樹木の研究が求められている。

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。ニッケル（Ni）、コバルト（Co）、カドミウム（Cd）、マンガン（Mn）、亜鉛（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壤中の重金属濃度が高い地域でも生育する能力を持つ。蛇紋岩土壤において特に Co と Ni を集積しており、Co、Ni の化学的性質が類似することから、リョウブは両元素を識別せず集積している可能性が考えられた。しかし、両元素とも植物における要求量は少なく、なぜ高濃度に集積するのかは明らかになっていない。また、その他の重金属に関してその集積特性はほとんど明らかになっていない。そこで、本研究では、リョウブの Co、Ni を中心とした重金属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実験を行い、以下の知見を得た。

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（根系を二つに分けて、

別々の処理溶液で生育する)を行い、各器官中の Co、Ni、硫黄 (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 (BCF = 各器官濃度/溶液濃度) 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いことが明らかとなった。また、葉での Co 集積には S が関与していることが示唆された。

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 (5、50、500  $\mu\text{M}$ ) に Co、Ni 濃度を調整した栄養液 (他重金属を含む) を用いて根圏に単独・複合処理を行い (Control、Co、Ni、Co+Ni 区)、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 に耐性があることが明らかとなった。Co 濃度は葉で最も高濃度になり、最高濃度は 2012  $\mu\text{g g}^{-1}$  だった。Co 輸送は Zn 輸送と競合したが、銅 (Cu) 輸送を刺激した。また、Ni は Zn 輸送と競合し、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示された。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) リョウブは様々な土壌に対して異なる重金属集積パターンを示すため、吸収・輸送における重金属間の相互作用は各重金属の根圏濃度に依存する可能性がある。そこで、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。根圏の重金属処理として、実験 1: Co、Mn 単独・複合処理実験 (Co、Mn、Co+Mn 区)、実験 2: Co、Ni、Zn 単独複合処理実験 (Zn、Zn+Co、Zn+Ni、Zn+Co+Ni 区) を行った。結果として、実験 1 では 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。実験 2 では、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。このため、3 章で確認された 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が示された。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。また、他重金属集積において競合による吸収促進効果は確認されなかった。実験 1、2 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いるため、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示唆された。

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、Co、Ni 処理を行ったリョウブの葉に対してシンクロトン光を用いた X 線分析を行い、葉面における金属分布と Co、Ni、S の葉中における化学状態を測定した。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、異なる葉内分布を示した。XENES分析と定量分析の結果から、細胞内でCoは硫酸とカウンターイオンとして関係し、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硫黄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発化していることが示され、高濃度になったSの一部がストレス耐性に関係していることが示唆された。

以上の結果から、本研究では、リョウブの集積特性として、NiよりもCo集積能力が高く、Coの超集積植物であることが明らかとなった。超集積特性を形成するCoの輸送や吸収はCu、Fe、Mn、Znなどの必須重金属元素の輸送機構と相互作用することが示されたが、Niとは識別されていることが示唆された。また、葉における蓄積において、CoはNi、Mn、Caと異なる分布をとることが明らかになった。この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つ。リョウブにおける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。