

# 琵琶湖流域に生育するシロイヌナズナ属野生種の 金属集積性に関する研究

小杉 亜希

環境動態学専攻

## はじめに

カドミウム(Cd)は非必須の有害重金属で、その化学的性質は植物の必須元素である亜鉛(Zn)と似ている。近年、農作物を通じて土壌や水圏等の環境中に存在するCdがヒトに摂取され、健康被害をもたらすことが危惧されている。農作物中のCd含有量を低下させる手段として土壌の改良にかかる費用が比較的小さく、また環境への負荷が小さいといわれるファイトレメディエーション技術が近年注目されている。本技術は植物を用いて土壌・水圏等の環境中から有害金属を除去するものである。本技術では客土よりも土壌浄化に要する時間がかかるため、用いる植物の選定が重要とされている。

ファイトレメディエーションに用いる植物として重金属集積植物が現在注目されている。この植物は生育環境の金属含有量に左右されずに金属を植物体地上部に高濃度に集積する性質を持っているため、効率的に汚染土壌中の金属を取り除くことができる。シロイヌナズナ属野生種に属するCd/Zn集積植物*Arabidopsis halleri*はモデル植物シロイヌナズナ(*A. thaliana*)の近縁種であることから、シロイヌナズナとのゲノム比較研究によりその金属集積性の解明が盛んに行われている。また、分子生物学的手法のみではなく物理化学的手法を用いた金属集積性の研究、さらにファイトレメディエーション技術への応用を想定したCd高集積品種の作出も行われている。以上のことから、*A. halleri*は植物の性質を解明する基礎的な研究のみではなく産業への応用も期待される有用な研究材料であるといえる。

琵琶湖流域には*A. halleri*の東アジア亜種である*A. halleri* ssp. *gemmifera*とその近縁種であるタチスズシロソウ(*A. kamchatica* ssp. *kawasakiana*; 図1a)が生育している。*A. halleri* ssp. *gemmifera*にはハクサンハタザオ(図1b)とイブキハタザオ(図1c)の2つの生態型

が知られている。ハクサンハタザオはCd/Zn集積性を持つことがすでに報告されているが、イブキハタザオとタチスズシロソウでは金属集積性および耐性に関する知見はない。また、ハクサンハタザオとイブキハタザオの生育地の1つとして知られる伊吹山は石灰岩地帯で、植物にとっては無機栄養の利用効率が低下する環境である。このような場所に生育するハクサンハタザオの金属集積性が土壌の性質に影響されているかどうかはいまだに検討されていない。

本研究ではイブキハタザオの金属集積性の有無、そしてZn欠乏条件である石灰岩土壌で生育するハクサンハタザオの金属集積性を非石灰岩土壌と比較して調査した。また、ハクサンハタザオの近縁種であるタチスズシロソウの金属集積性および耐性を琵琶湖湖岸の系統を用いて調査した。

## 1. 石灰岩土壌に生育するハクサンハタザオ およびイブキハタザオの金属集積性

### (1) 石灰岩土壌で生育するハクサンハタザオ およびイブキハタザオの金属集積性

ハクサンハタザオとイブキハタザオはともに*A. halleri* ssp. *gemmifera*の生態型であるが、その分布や形態的特徴が異なる。ハクサンハタザオは北海道から九州にかけて広く分布しているが、イブキハタザオは伊吹山と藤原岳にのみ分布している。伊吹山にはどちらの生態型も分布しているが、イブキハタザオは標高1,000m以上の高標高域、ハクサンハタザオは低標高域というようにすみ分けをしているといわれている。また、2つの生態型間で葉や花茎のトライコーム密度等の形態的特徴に違いがみられ、密度が低いものがハクサンハタザオ、高いものがイブキハタザオとされている。

伊吹山の滋賀産敷地内(滋賀県)を石灰岩土壌、

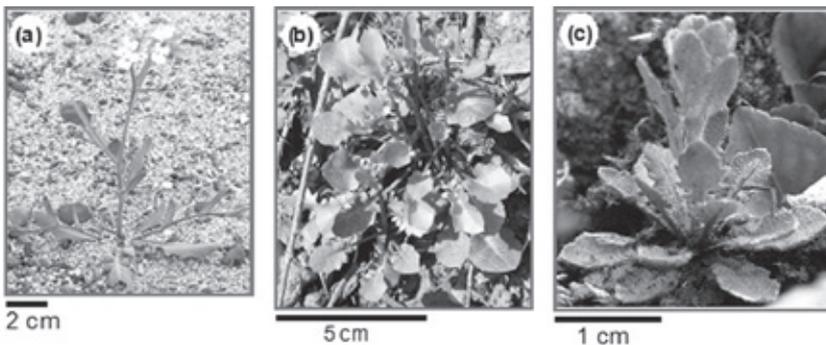


図1 琵琶湖流域のシロイヌナズナ属野生種

(a) はタチスズシロソウ(2015年4月に彦根市で撮影)、(b) はハクサンハタザオ(2013年3月に大津市で撮影)、(c) はイブキハタザオ(2011年米原市で撮影)の写真である。

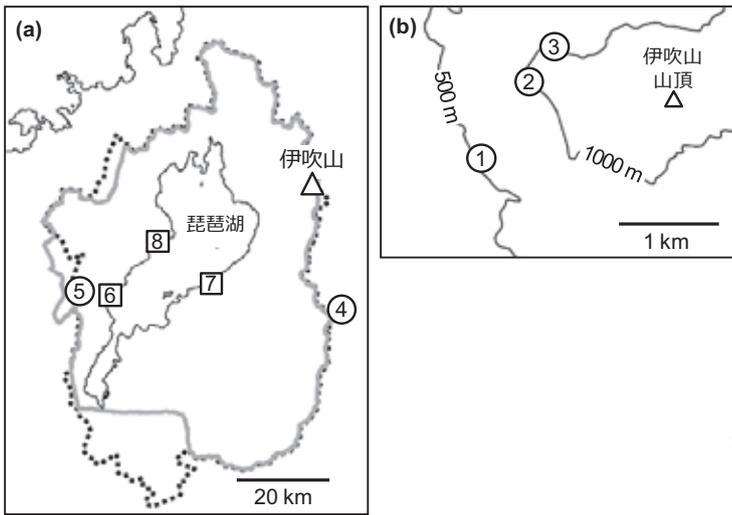


図2 植物および土壌の採取地点  
(a) は各採取地点の位置関係、(b) は伊吹山の3つの採取地点の位置関係を示す。(a) において点線で囲まれた部分が滋賀県、灰色の実線で囲まれた部分は琵琶湖流域の範囲である。ハクサンハタザオあるいはイブキハタザオの採取地点は○、タチスズシロソウ採取地点は□で地図上に印をつけた。採取地番号1は伊吹1、2は伊吹2、3は伊吹3、4は藤原、5は足尾、6は大津、7は彦根、8は高島を示す。

藤原岳の麓(三重県；藤原)を非石灰岩土壌の採取地に設定(図2a)し、各採取地での植物の金属集積性と生育土壌の性質との関連性を調査した。伊吹山では低標高域の1地点(伊吹1)、高標高域の2地点(伊吹2と伊吹3)の計3地点(図2b)から植物体とその根圏付近の土壌の採取を行った。伊吹山の3地点で採取した植物の形態的特徴から、低標高域の伊吹1ではハクサンハタザオ、高標高域の1つである伊吹3ではイブキハタザオ、もう1つの高標高域の伊吹2ではハクサンハタザオとイブキハタザオの中間の形態的特徴を持つ植物が生育していることがわかった。

植物体地上部のCd含有量を測定したところ、伊吹2と伊吹3で採取した植物はCd集積植物の基準値(100 mg kg<sup>-1</sup>)を超える高濃度のCdを含有していた(図3a)。また、Cd含有量は伊吹3よりも伊吹1で採取した植物のほうが高かった。一方で、伊吹山の3地点に生育していた全ての植物のZn含有量はZn集積植物の基準値(3,000 mg kg<sup>-1</sup>)を大きく下回っており(図3b)、Zn集積性を示さなかった。このように伊吹山のハクサンハタザオおよびイブキハタザオはCdを集積するが、Znを高濃度に集積していなかった。

石灰岩土壌での植物の金属集積性が土壌の性質によるものであるかを検討するため、0.1 M塩酸を用いて土壌から抽出した金属含有量を測定した。植物体のCd含有量に違いがみられた伊吹1と伊吹3の土壌の酸抽出性Cd含有量には差がみられなかった(図4)。これにより、イブキハタザオはハクサンハタザオよりも高いCd集積性を持つことが示唆された。他方で、土壌の酸抽出性Zn含有量は藤原と比較して伊吹山の3つの採取地の土壌において有意に低かった(図4)ことから、石灰岩土壌ではZnが植物に吸収されにくい形態で存在しており、そのような土壌で生育するハクサンハタザオやイブキハタザオはZnを高濃度に集積しないと推測された。

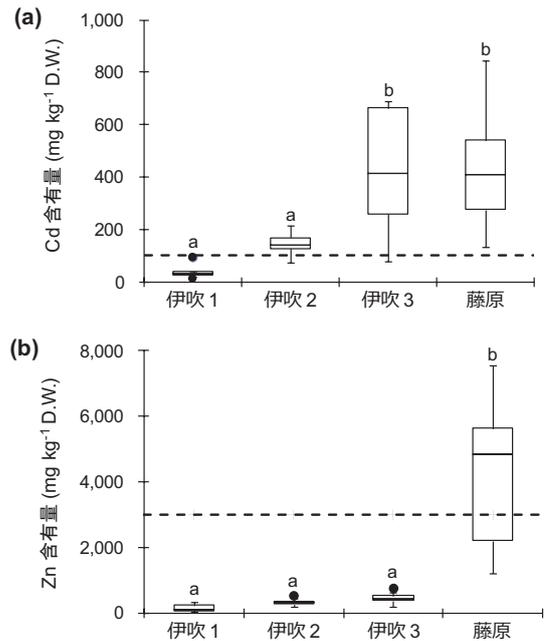


図3 伊吹山および藤原で生育したハクサンハタザオとイブキハタザオの植物体地上部の金属含有量  
各採取地点で採集した植物体地上部のCd含有量(a)およびZn含有量(b)を示す。(a)の破線はCd集積植物の基準値100 mg kg<sup>-1</sup>、(b)の破線はZn集積植物の基準値3,000 mg kg<sup>-1</sup>を表す。Tukey-Kramer多重比較検定により異なるアルファベット間に5%水準で有意差があることを示す。

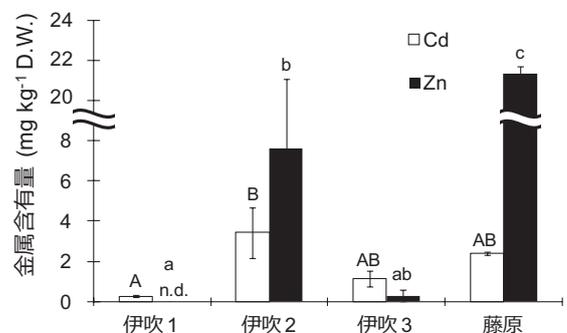


図4 伊吹山および藤原で採取した植物体根圏付近の土壌の0.1M塩酸抽出性金属含有量  
エラーバーは標準誤差を表す。n.d.は検出限界値以下であることを示す。Tukey-Kramer多重比較検定により異なるアルファベット間に5%水準で有意差があることを示す。

## (2) 石灰岩土壌由来のハクサンハタザオのZn集積性

前項で述べたように、石灰岩地帯では土壌の性質により重金属集積植物ハクサンハタザオはZnを集積しない可能性があると考えられた。しかし、伊吹山に生育するハクサンハタザオが遺伝的にZn集積性を持たない特殊な系統であるということも否定できない。そこで、伊吹山の低標高域の伊吹1 (図2b)と非石灰岩土壌の足尾谷付近(滋賀県; 足尾; 図2a)から採取したハクサンハタザオを用いて、水耕栽培条件下でのZn集積性を調査した。各地点で採取したハクサンハタザオを1/10 x Hoagland培地(対照区)あるいは100 μM Zn添加した1/10 x Hoagland培地(Zn過剰区)で1週間生育させた。地上部のZn含有量の平均値は、伊吹1で生育していたものでは177 mg kg<sup>-1</sup> D.W.であり、これをZn過剰区で生育させた後では2,370 mg kg<sup>-1</sup> D.W.であった。このように、野外で生育していたときよりも10倍以上のZnを植物体の地上部に含有していたにもかかわらず、Zn過剰区で生育した伊吹1由来の植物にはZn過剰症状はみられなかった。以上のことから、石灰岩土壌由来のハクサンハタザオは遺伝的にZn集積性および耐性を持つことが示唆された。

## 2. 琵琶湖湖岸に生育するタチスズシロソウの金属集積性と耐性

タチスズシロソウは本来海岸沿いの砂浜に生育する海浜植物であるが、琵琶湖湖岸の砂浜でも自生していることが知られている。タチスズシロソウは絶滅危惧IB類に指定されており、その生育個体数の減少が問題となっているが、琵琶湖湖岸には複数のタチスズシロソウ個体群の存在が確認されている。2015年4月から5月にかけて、柳川-薩摩町の湖岸の砂浜(滋賀県; 彦根; 図2a)には約9,000m<sup>2</sup>一面にタチスズシロソウが生育していた。2015年5月にベルトトランセクト法を用いて個体数調査を行い、調査結果をベイズモデルで解析した。その結果、彦根には約11,000個体のタチスズシロソウが生育していると推定された。

タチスズシロソウはCd/Zn集積植物ハクサンハタザオと非耐性・集積植物*A. lyrata*から派生した異質四倍体であり、その金属集積性に長く関心が持たれていた。そこで、松の浦水泳場付近(滋賀県; 大津)、彦根および近江白浜水泳場付近(滋賀県; 高島)の3地点(図2a)で採取したタチスズシロソウの葉と植物の根圏付近の土壌の金属含有量の測定を行い、その金属集積性を調査した。採取した全ての植物試料にZn集積植物の基準値である3,000 mg kg<sup>-1</sup>に匹敵す

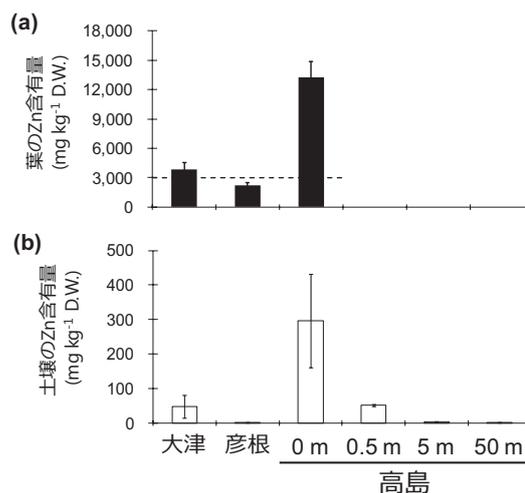


図5 大津、彦根および高島で採取したタチスズシロソウの葉と土壌のZn含有量

各採取地のタチスズシロソウの葉 (a) および土壌 (b) のZn含有量を示す。(a) の破線はZn集積植物の基準値 3,000 mg kg<sup>-1</sup>を示す。(b) は土壌から0.1 M 塩酸で抽出したZnの含有量を示す。大津と彦根は葉を採取した植物の根圏付近の土壌のみZn含有量を示しており、高島については植物の根圏付近の土壌を0 m、根圏から離れた部分の土壌はそれぞれ植物集団からの距離に基づいて0.5 m、5 m、50 mとして示している。エラーバーは標準誤差を表す。

るZnが含有されていた(図5a)。したがって、採取した3地点のタチスズシロソウはいずれもZn集積植物であることが示された。そのなかでも高島で採取した植物のZn含有量が最も高かった。また、土壌の酸抽出性Zn含有量も植物と同様、高島のタチスズシロソウの根圏で最も高くなっていた(図5b)。高島は他の採取地に比べて根圏付近の土壌のZn含有量が高かったため、タチスズシロソウ集団から離れた場所からも土壌を採取して金属含有量を測定した。すると根圏付近の土壌Zn含有量のみが高く、植物集団から離れるにしたがってそのZn含有量は低下していった(図5b)。このことから、タチスズシロソウはZn含有量が高い場所を好む傾向があると推測された。なお、Cdは今回分析したすべての土壌試料および植物試料で検出限界以下であった。

タチスズシロソウの金属耐性は種子から発芽させた幼植物体を用いて調査した。金属耐性試験には野外でのZn含有量が最も高かった高島と最も低かった彦根の計2系統のタチスズシロソウ、Cd/Zn非耐性植物のシロイヌナズナ、高いCd/Zn耐性を持つハクサンハタザオの種子を供試した。発芽から1日後の各植物種の幼植物体を1/10 x Hoagland寒天培地(対照区)、25 μM Cdを添加した1/10 x Hoagland寒

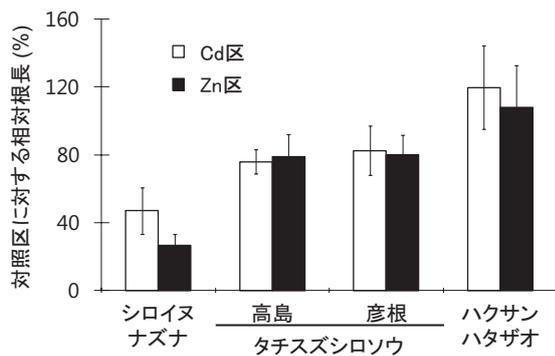


図6 対照区に対するシロイヌナズナ、タチスズシロソウおよびハクサンハタザオの幼植物体の相対根長  
エラーバーは標準偏差を表す。

天培地(Cd区)あるいは250  $\mu$ M Znを添加した1/10 x Hoagland寒天培地(Zn区)のいずれかに移植して14日間生育させた後に、対照区とCd区あるいはZn区での最大根長を比較することで金属耐性を調査した。この結果、タチスズシロソウの高島と彦根の系統間で金属耐性の差はみられなかった(図6)。また、タチスズシロソウのCdあるいはZnへの耐性はハクサンハタザオとシロイヌナズナの間であった。各植物種・系統の対照区の幼植物体の根長の平均値を100%としたとき、シロイヌナズナではCdあるいはZn区の幼植物体の根長は50%以下であった。しかし、タチスズシロソウではどちらの系統でも対照区からの減少は76-83%にとどまったことから、琵琶湖湖岸のタチスズシロソウはCdおよびZn耐性を持つことが示された。

## まとめ

本研究では琵琶湖流域に生育するシロイヌナズナ属野生種の金属集積性を調査し、重金属集積植物ハクサンハタザオの金属集積性が生育土壌の性質に大きく影響を受けることを明らかにするとともに、新たな重金属集積植物として琵琶湖湖岸に生育するタチスズシロソウのZn集積性およびCd/Zn耐性を見出した。

今後の重金属集積植物を用いたファイトレメディエーション技術の開発にあたり、植物の金属集積能力と土壌の性質の関連性を考慮して研究を進めていく必要があると考えられる。また、本技術の開発に重要とされる植物の金属集積性の解明研究において、*A. halleri*に加えてタチスズシロソウが有用な研究材料となるかもしれない。