

B-58 シロイヌナズナにおける 重金属吸収特性と生体影響に関する検討

○鈴木 陽子^{1*}・戎井 伸吾¹・中山 亜紀¹・米田 稔¹・森澤 眞輔¹

¹京都大学工学研究科都市環境工学専攻

(〒615-8540 京都府京都市西京区京都大学桂4 環境リスク工学専攻)

* E-mail: suzuki@risk.env.kyoto-u.ac.jp

1. はじめに

近年、重金属による土壤汚染が顕在化し、土壤汚染による生活環境や生態系への影響が懸念されているが、生態系への影響の実情は十分に把握できていない。生体影響についてはなお基礎的情報や評価手法の適用事例を集積する段階に留まっており、画期的なリスク評価手法の考案が求められている。

現在は、モグラやミミズ等の地中動物を指標生物とした生態系リスク評価が主として行われているが¹⁾、植物を対象とした研究例は少ない。植物は一次生産者として生態系の中で大きな役割を果たし、また土壤との関係も密接であることから、土壤汚染リスク評価の指標生物としての利用価値は大きいと考えられる。

我々は、ゲノム解析が終了し、分子学的・生理学的情報が豊富なシロイヌナズナに着目し、これを指標生物とするリスク評価手法の考察を目指し、重金属曝露による生体影響や、各部位への蓄積性に関する基礎的研究を行ったので、ここに報告する。

2. 実験方法

(1) 対象重金属

本研究では、わが国の市街地土壤中にしばしば高濃度で検出されるPb、Cdを対象として実験を行った²⁾。曝露実験には酢酸鉛(II)三水合物及び酢酸カドミウム二水和物(共に(株)和光純薬製)を使用した。

(2) シロイヌナズナの栽培方法

シロイヌナズナは、重金属を所定の濃度で含む寒天培地上で、温度22℃、湿度60%、16時間明期、8時間暗

期の条件で栽培した。寒天培地の組成は、ムラシゲ・スクーグ培地用混合塩類4.3g/L、MES0.5g/L、スクロース5g/L、ゲランガム2g/Lとし、溶媒には超純水を用いた。ムラシゲ・スクーグ培地用混合塩類は(株)日本製薬製、MESは(株)同仁化学研究所製、それ以外の試薬は(株)和光純薬製である。各濃度につきプレート4枚を作成し、各プレートに20個ずつ播種した。

(3) 生体影響に関する実験

a) 発芽率試験

栽培開始から10日までの各処理濃度における発芽状況を観察した。

b) 成長試験

寒天培地上で20日間栽培したシロイヌナズナを20個体採取し、根長、葉面積を測定した。採取したサンプルを透明なフィルム上でスキャンし、グラフィックソフトウェアCanvas(Deneva, Japan)及びimageJ(NIH, U.S.A)によりそれぞれ数値化した。葉面積は個体中で最も大きい二つの葉を採取して平均を求めた。

(4) 部位別重金属濃度の測定

寒天培地上で20日間栽培したシロイヌナズナを葉部と根部に分離し、100℃で4時間かけて乾燥させたサンプルを、硝酸15mlで加熱・加圧により分解した。この分解には、湿式分解装置MDS-2000(CEM corporation)を用いた。

これを超純水で20倍に希釈し、45μmのフィルターによりろ過し、誘導結合プラズマ質量分析装置ICP-MS(HEWLETT PACKARD)を用いて質量分析を行った。本研究では、内標準法と検量線法を併用して抽出液中の重金属濃度を測定した。

内標準物質にはInを用いた。Inは全測定サンプルと

検量線サンプルに50ppbで均一に含まれるように添加し、そのカウント数の変動から全サンプル測定元素のカウント数を補正した。検量線は、各測定元素を0、1、2、5、10、20、50、100、200、500、1000ppb含む標準液を用いて、その濃度と測定カウント数との関係から作成した。

また、検出限界値は抽出液中サンプルと同様の加熱・加圧処理を加えたブランクサンプルを5本作成し、その測定結果から得られた値の標準偏差の3倍の値とした。

抽出液中の重金属濃度を求めた後、植物体乾燥重量から植物体中の重金属濃度を算出した。

3. 実験結果

(1) 発芽率試験

図1、2にPb、Cd含有培地での発芽率試験結果を示す。シャーレ4枚の標準誤差によりエラーバーを付した。非曝露群との有意差検定にはMann-Whitney検定を用いた。以下、全ての検定でこの方法を用いた。

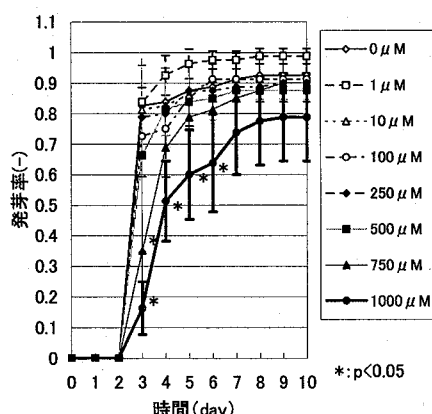


図1 Pb含有培地での発芽率

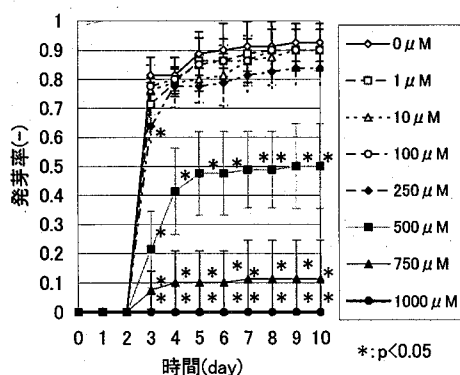


図2 Cd含有培地での発芽率

Pb含有培地では、栽培開始3日目で750 μ M、1000 μ Mの曝露濃度について、非曝露群と比較して発芽率がそれぞれ40%、70%に低下し、有意差が見られた。

Cd含有培地では、栽培開始3日目で250 μ M以上の曝露群について非曝露群と比べて発芽率が9.2~78%に低下し、有意差が見られた。

以上の結果からPb、Cdに発芽の遅れを引き起こす毒性があることが示された。

(2) 成長試験

図3に根長の測定結果を示す。標準誤差によりエラーバーを付した。ただしCd濃度250 μ M以上では根が十分に成長せず、測定不能となった。

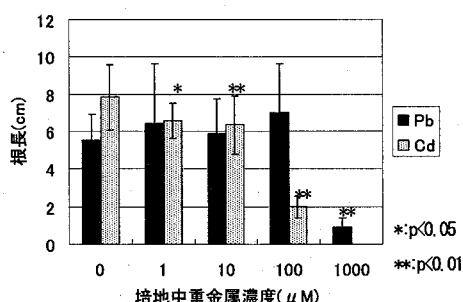


図3 重金属による根の伸長阻害

Pb含有培地では、1000 μ Mで根の伸長が非曝露群と比較して17%に阻害された。Cd含有培地では、1 μ Mで84%、10 μ Mで81%、100 μ Mで25%に阻害され、有意差が見られた。

葉の伸長阻害については、Pb含有培地では、1000 μ Mの濃度で葉面積が比曝露群と比較して28%に低下、Cd含有培地では、100 μ Mで25%に低下し、有意差が見られた。Cd濃度250 μ M以上では葉が十分に育成せず、測定不能であった。

以上よりPb、Cdに根および葉の成長を阻害する毒性が有することが示された。

(3) 部位別重金属濃度測定結果

図4、5に部位別Pb濃度、Cd濃度の測定結果を示す。1000 μ MのPb含有培地で栽培したシロイヌナズナは十分な量の根が得られなかったため、乾燥重量あたりのPb濃度を算出できなかった。

Pb曝露したシロイヌナズナでは、根へのPb蓄積量が葉の6.5~17.5倍であった。また、処理濃度依存的に部位別Pb濃度が上昇した。

Cd曝露したシロイヌナズナも同様に、根への蓄積量が葉よりも多く、6.7~65倍であった。こちらも処理濃度依存的に部位別Cd濃度が上昇した。コントロール群(処理濃度0 μ M)からも比較的高濃度で重金属が検出され

たが、これは実験中に何らかの原因で一律にコンタミネーションが生じたためであると推測される。

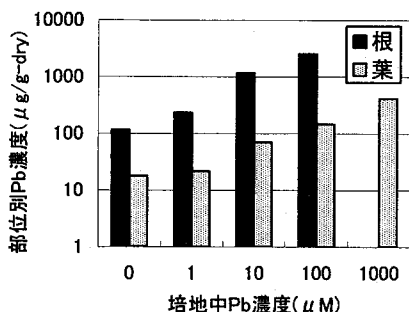


図4 部位別Pb濃度(単位乾燥重量あたり)

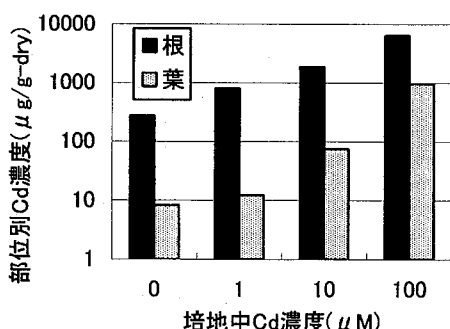


図5 部位別Cd濃度(単位乾燥重量あたり)

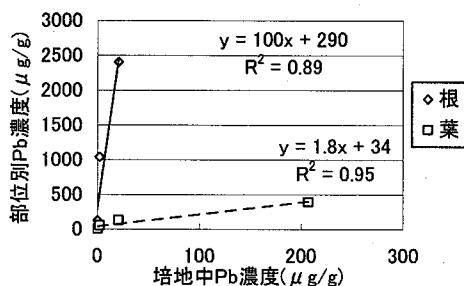


図6 培地中Pb濃度と部位別Pb濃度との関係

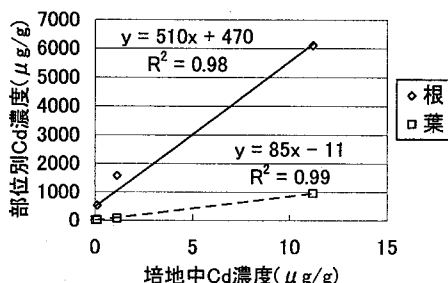


図7 培地中Cd濃度と部位別Cd濃度との関係

そこで、各処理濃度の値から、バックグラウンド値としてコントロール群の値を差し引き、培地中重金属濃度と、植物体部位別重金属濃度との関係を図6、7にプロットし、線形回帰式を求めた。移行係数は線形回帰式の一次係数として表される。

Pbの根への移行係数は 1.0×10^2 、葉への移行係数は1.8であった。また、Cdの根への移行係数は 5.1×10^2 、葉への移行係数は 8.6×10 であった。ここから、Pb、Cdともに葉よりも根に特に蓄積しやすいことが明らかになった。さらに、PbとCdの移行係数を比較すると、Cdの移行係数がPbの移行係数よりも根において5.1倍、葉において48倍大きい値となった。これはCdがPbに比べて吸収されやすいことを示す。Cdは植物に吸収されやすいという一般的な説とも一致した結果となった³⁾。

4. まとめ

重金属によるシロイヌナズナの発芽率への影響を実験的に把握した。Pb、Cdには発芽の遅れを引き起こす毒性があると考えられ、高濃度曝露により発芽不能を引き起こすことが明らかになった。また、Pb、Cdによる根、葉への影響が確認され、根において顕著な影響が現れることがわかった。

重金属を含む培地で栽培したシロイヌナズナの部位別重金属濃度を測定することで、重金属の吸収特性を把握し、影響の発現しやすい部位について検討した。測定結果より、根部において吸収率が高いことが明らかになり、これは生体影響の結果とも一致している。

今後は、花や種子への移行についても明らかにし、シロイヌナズナについて生理学的薬物動態モデルの構築を目指す。

参考文献

- 金子 信博
「土壌系における生態系レベルでのリスク評価」
<http://www.bio-eco.eis.ynu.ac.jp/jpn/database/report/NKanekoVer1.pdf>
- 環境省「土壌汚染対策法について」
<http://www.env.go.jp/water/dojo/law.html>
- 伊豆田 猛「植物と環境ストレス」コロナ社