

植物の重金属耐性

石川県立金沢泉丘高等学校理数科

浅木 悠真 小野 友大 宮坂 泰正 山津 侑暉 山本 悠史

要旨

ヘビノネゴザは銅や鉛、カドミウムなどの重金属に対して耐性を持ち、これらを土壌中から根で吸収し、蓄積する。この重金属耐性のメカニズムはポリフェノール系のプロアントシアニンやファイトケラチン（分子量 400～2000）などによって引き起こされることが分かっている。そこで、①自然環境下でヘビノネゴザに蓄積している銅濃度を測定した。次に②重金属耐性のない植物（バジル）との発芽・成長の違いを調べた。その結果、銅を含む土壌で生育するヘビノネゴザは根に銅を蓄積させていること、バジルはヘビノネゴザに比べ、銅に対し発芽・成長に阻害の出ることが分かった。

1. 研究背景・目的

近年、重金属などで汚染された土壌から汚染物質を除去するファイトレメディエーションと呼ばれる技術の開発に注目が集まっている。そこで、実際に尾小屋銅山跡地に自生するヘビノネゴザと銅含有量の低い土壌に自生するヘビノネゴザの体内各部の銅濃度を測定すると、植物により金属耐性に違いがあるかを発芽や成長の度合いとして測定することを目的とした。

〈材料の紹介〉



～ヘビノネゴザ～

- ・ 鉱床地帯の指標植物として活躍するシダ植物。
- ・ 銅や鉛などといった重金属を根から吸収し、細胞壁内に蓄積することで無毒化する。

2. 仮説

- ①ヘビノネゴザは土壌中の銅イオンを根で吸収した後、葉柄・中軸や葉まで運搬し、蓄える。
- ②ヘビノネゴザは銅イオンをキレート状態にして結合させ、蓄積する。
- ③ヘビノネゴザが周囲の土壌から重金属を吸収することによって、土壌中の重金属は減少する。
- ④重金属耐性を持たない植物としてバジルは銅が含まれている土壌では銅含有量がわずかな土壌でも成長できない。また、発芽できない。



～バジル～

- ・発芽周期が非常に早く、10日ほどで発芽する。
- ・日本中どこでも栽培可能

3. 実験方法

3-1 自然環境下に自生するヘビノネゴザ中の銅濃度の定量

ヘビノネゴザのどの部分に銅が蓄積されているのかを調べる。

材料：ヘビノネゴザ（尾小屋銅山跡地、樹木公園）

試薬等：液体窒素、硝酸（0.5mol/L）、乳鉢・乳鉢、water bath、ミリポアフィルター、遠心分離機

- ① ヘビノネゴザを尾小屋銅山跡地（小松市）と樹木公園（白山市）から採取し、葉、葉軸・中軸、根の3部位を、ハサミを用いて切り分けた。
- ② ヘビノネゴザの各部位を乳鉢に入れ、そこに液体窒素を注ぎ、乳鉢を用いて粉碎した。
- ③ 乾燥重量約 0.3g ごとに 0.5mol/L の硝酸 10mL を加え、80°C water bath に 1 時間浸し、細胞壁を溶解する。
- ④ 溶解液を 2400g で 5 分間遠心分離し、その上澄みを取ってさらに 2 万g で 5 分間遠心分離し、直径 0.2 μm のミリポアフィルターに通し夾雑物を除く。
- ⑤ 原子吸光により銅濃度を測定。（事前に既知の銅濃度で検量線を取る。

3-2 土壌の銅濃度の定量

ヘビノネゴザが自生していた根の近くの土壌と周辺の銅含有量を調べ、実際に根への銅の移動があるかを調べた。

材料：土壌（尾小屋銅山跡地のヘビノネゴザの根付近など周辺のもの）

試薬等：水、ミリポアフィルター、遠心分離機

- ① マイクロチューブに土壌約 5 g と水 30ml をそれぞれ入れる。
- ② 2400g で 5 分間遠心分離する。
- ③ 上澄みを濾過する。
- ④ 濾液をマイクロチューブに小分けする。
- ⑤ 0.2 μm のミリポアフィルターに通し、夾雑物を除去する。
- ⑥ 原子吸光にかけて分析する。

3-3 バジルの成長に対する銅の影響

重金属耐性を持たない植物としてバジルが銅を含んだ培地で成長にどのような影響を受けるのかを調べた。

材料：バジル

試薬等：寒天粉末、MS 培地（養分）、硫酸銅五水和物、試験管、次亜塩素酸ナトリウム、エタノール、蒸留水、クリーンベンチ、電子レンジ

- ① 硫酸銅五水和物で銅 0, 2, 5, 0, 7.5, 10ppm に調整した MS 寒天培地（試験管）に滅菌したバジルの種子を植えて、一定期間（2 週間～）育てる。種子は 70%エタノール 30 秒間、次亜塩素酸ナトリウム 10 分間浸漬した後、滅菌水で十分洗って滅菌した。
- ② 発芽の有無、発芽後に伸長したかどうかの 2 点についてチェックし、記録する。

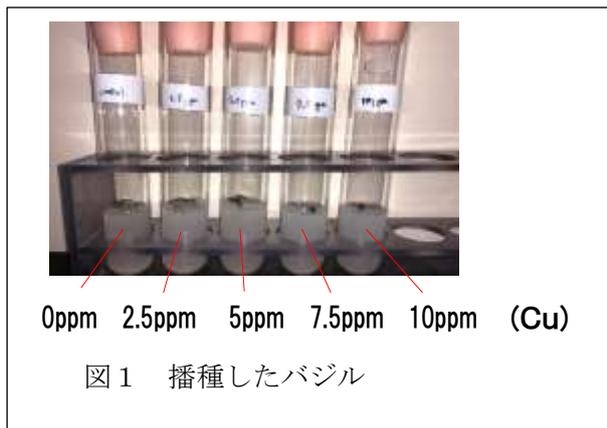


図1 播種したバジル



図2 蒔いたヘビノネゴザの前葉体
(左から Cu 濃度 0, 5, 10, 50, 100ppm)

3-4 バジルの発芽に対する銅の影響

各濃度の銅を含んだ培地にバジルを播種し、発芽率を求めた。

材料、試薬等：3-3の実験に同じ。

- ① 硫酸銅五水和物で銅濃度を 0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10ppm に調整した MS 寒天培地 (シャーレ) にバジルの種子を 20 個ずつ植えて、一定期間 (2 週間〜) 育てる。
- ② 発芽の有無、発芽後の伸長の有無の 2 点について、記録する。

適合条件：発芽した…芽が確認できる。

成長した…1 cm 白い根の部分が確認できる, 培地内に根が入り込んでいる。

3-5 銅のヘビノネゴザへの影響

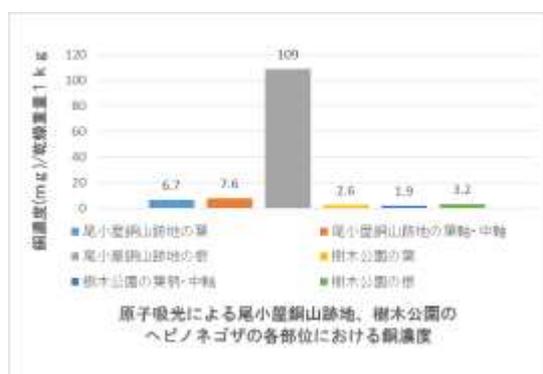
材料：ヘビノネゴザ (前葉体)

試薬等：寒天粉末、MS 培地、硫酸銅五水和物、試験管、次亜塩素酸ナトリウム、エタノール、蒸留水、電子レンジ

- ① 胞子から育てたヘビノネゴザの前葉体を硫酸銅五水和物で銅濃度を 0, 5, 10, 50, 100ppm に調節した MS 寒天培地に植えて、育てる。

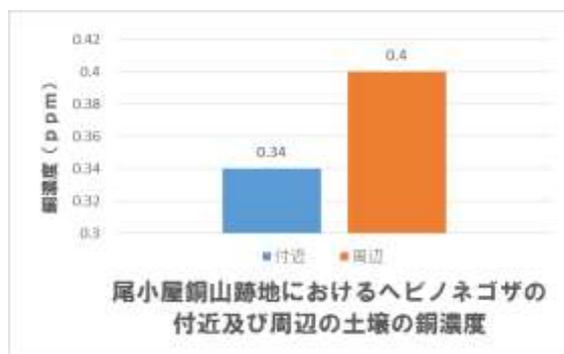
4. 結果と考察

3-1 の結果



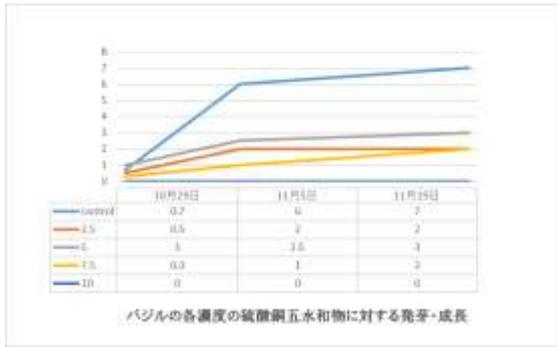
- ・葉、葉柄・中軸、根の 3 部位の中でも根に集中して銅が存在していた。
- ・樹木公園ではどの部位も銅濃度はわずかであった。

3-2 の結果



- ・ヘビノネゴザ付近の土壌の銅濃度は、周辺の土壌よりも小さくなった。

3-3の結果



- 銅濃度 0、2.5ppm ではバジルは順調に成長した。
- バジルは銅濃度 5 ppm、7.5 ppm では根を伸ばさずに培地の表面でとぐろを巻くように丸まった。
- 10ppm では発芽することはなかった。

3-4の結果



←実験の様子 (9, 10ppm)

表 バジルの発芽数、伸長数、発芽率、伸長率

	control	5	6	7	8	9	10
発芽数	18	18	16	14	15	14	18
伸長数	16	15	7	5	2	1	0
発芽率	90	90	80	70	75	70	90
伸長率	80	75	35	25	10	5	0

単位：銅濃度（横軸）…ppm (mg/L)

発芽数、伸長数（縦軸）…個/20 個中

(発芽率：発芽数×100/20×1.111)

(伸長率：伸長数×100/20×1.25)

単位：発芽率、伸長率…%、

銅濃度（横軸）…ppm (mg/L)

- 発芽は吸水による物理現象であるため、10ppm でも起こった。
- 培地における銅の濃度が増えるにつれて、伸長阻害の反応が強くなった。

3-5の結果

- いずれの濃度の培地でも枯死するものはな

く、銅に対する耐性が確認できた。

- 特に 0, 100ppm で前葉体がよく成長していることが観察でき、銅 100ppm でもヘビノネゴザが成長することが分かった。

5. 考察

- 3-1 より、先行研究では根だけでなく葉や茎にも銅を蓄積するとあったことに対し、根に大半の銅が含まれていたことから、ヘビノネゴザの重金属耐性は根に存在すると考えられる。
- 3-2 より、根の付近の土壌はヘビノネゴザの銅吸収により周辺よりも銅濃度が小さくなったと考えられる。
- 3-3 より、バジルは銅濃度 5ppm ほどで伸長に阻害を受け、10ppm ほどで発芽に阻害を受けると考えられる。
- 根を丸めるという現象はバジルが培地内の重金属(銅)に対して何らかの拒絶反応のようなものを起こしたことによるものだと考えられる。

6. 今後の課題

ヘビノネゴザとバジルの銅に対する正確な発芽及び伸長における耐性限界を明らかにすることや、本実験は尾小屋銅山跡地からヘビノネゴザを採取したこともあり、実験対象を銅に絞って行っていたが、できる限り鉛やカドミウムなどといった他の重金属を実験対象として同じような実験を行っていきたいと考えている。

7. 謝辞

今回の研究では富山大学生物圏環境科学科の蒲池浩之先生をはじめ、石川県立大学生物資源工学研究所中谷内修先生、松崎千秋先生、北陸先端科学技術大学院大学小田和司先生のご指導、ご協力を賜りましたことを一同ここに厚く御礼申し上げます。

8. 参考文献

蒲池浩之 (2008)ヘビノネゴザー重金属を
ためる奇妙な植物ー富山大学理学部

玉置雅紀 (国立環境研究所) (2007)『毒を
貯める植物ー植物はなぜ金属を貯めるの
か?』

田岡裕規、保倉明子、後藤文之、吉原利一、
阿部知子、中井泉 (東京理科大学、東京電機
大学、電力中央研究所、理研 NRC)『放射光蛍
光 X 線分析を利用したヘビノネゴザにおけ
る重金属の蓄積機構の解明』

岡田弘、榊原正幸、末岡裕理、世良耕一郎
(2015)『重金属汚染された河川流域におけ
る自生ヘビノネゴザの重金属集積に関する
研究』

京都大学植物栄養学研究室 (2013)『ファイ
トケラチンによる重金属耐性の解析』

(2009)『尾小屋銅山など金属鉱山の周辺に
群生する低木、リョウブ (令部)、土壌とリ
ョウブ組織内の重金属の分布状態、自然環境
の重金属汚染と浄化 (植物群落の遷移)、と
は』

(2009)『生野銀山など金属鉱山の周辺に群
生するシダ植物、ヘビノネゴザ、土壌とヘビ
ノネゴザ組織内の重金属の分布状態、自然環
境の重金属汚染と浄化、とは』