

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380038

研究課題名(和文) ウコギ科植物における金属集積機構の解明と放射性ストロンチウム除去技術への応用

研究課題名(英文) Metal accumulation mechanism of Araliaceae plants and their application for phytoremediation of radioactive Sr.

研究代表者

水野 隆文 (Mizuno, Takafumi)

三重大学・生物資源学研究科・准教授

研究者番号：50346003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：コシアブラのストロンチウム集積はマンガンとカルシウムにそれぞれ相関があることが判明した。ヤナギ類、コシアブラおよびタカノツメ木の樹皮中にはCaとSrを含んだ結晶状の物質が観察され、木本植物に吸収されたSrは、樹皮中で不溶性の結晶状物質を形成し、植物体内に長く留まる可能性があることが考えられた。ヤナギ表皮部分から採取したRNAについて発現量解析を行った結果、Ca結合性タンパク質などの候補遺伝子群が得られた。菌根菌の分布を比較したところ、菌根菌が多いところはセシウム137が多いことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Non-radioactive Sr concentration in Chengiopanax sciadophylloides in field showed a correlation with those of Mn and Ca. With SEM - EDX observation we could find crystal compounds that contain Ca and Sr in the bark of Salix sp, Chengiopanax sciadophylloides and Eleutherococcus innovan, suggesting that Sr absorbed in trees stored in crystalized materials and stored for long period. We also identified several genes including Ca-conjugated protein as genes related for Sr accumulation in trees. Roots with higher <sup>137</sup>Cs had higher colonization rate of AM fungi in the Chengiopanax sciadophylloides rhizosphere.

研究分野：植物栄養学・土壌学・生態学

キーワード：コシアブラ 土壌浄化 放射性ストロンチウム ヤナギ タカノツメ 放射性セシウム

### 1. 研究開始当初の背景

東日本大震災に起因する福島原発事故は、日本の歴史上類を見ない、放射性物質による大規模な土壤汚染を引き起こした。土壤からの汚染物質除去は、現在日本における最優先の課題であり、迅速かつ効果的な浄化技術の確立が求められている。

削り取った表土や土壤洗浄水から放射性物質を分離するためには、植物が持つ金属吸収機構と濃縮能力を用いた浄化法、いわゆるファイトレメディエーションが有用と考えられる。その一方、本来植物が必要としないセシウムやストロンチウムの吸収については、体内への輸送メカニズムがほとんど解明されておらず、吸収促進や蓄積量増大に寄与する知見が非常に限られているのが現状である。

### 2. 研究の目的

本研究は放射性ストロンチウムおよびセシウムの除去用作物の選抜と作出を目標として、

非放射性元素汚染地帯に分布するコシアブラのストロンチウム集積に関する知見を得ること

ヤナギおよびウコギ科植物(タカノツメおよびコシアブラ)のストロンチウム集積パターンについて、大型放射光施設(SPring-8)において明らかにすること

コシアブラおよびヤナギにおけるストロンチウム集積遺伝子を明らかにすること  
コシアブラの放射性セシウム集積における菌根菌の役割について解明すること。

以上四点を明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

コシアブラのストロンチウム集積に関するフィールド調査

東海北陸近畿の5県(石川・福井・滋賀・三重・愛知)の7地点においてそれぞれ10本のコシアブラ木から葉を採取し、ストロンチウムと各種金属元素の濃度を調べ、その相関について調査した。植物体については乾燥後硝酸による湿式分解に供し、原子吸光度計もしくはICP-AESによる金属濃度測定を行った。

放射光によるヤナギ、タカノツメ、コシアブラのストロンチウム集積パターンの解明

ストロンチウムの高集積植物とされるヤナギ属(*Salix* sp.)、ウコギ科のタカノツメ(*Eleutherococcus innovans*)およびコシアブラ(*Chengiopanax sciadophylloides*)を用い、ストロンチウムの集積機構の解明を試みた。植物体内での局在部位を調べるため、野外で植物体を採集し、安定同位体ストロンチウムの分析を行った。特に枝の樹皮と木部における金属の元素の分配に着目した。誘導結合プラズマ発光分析(Inductively Coupled

Plasma - Atomic Emission Spectrometry, ICP-AES)法でSr、Ca、Fe、Mn、Zn、Cuの部位別の定量分析を行ったところ、いずれの金属も木部より樹皮に高濃度で含まれていた。枝の凍結切片(厚さ50  $\mu\text{m}$ )を作成し、放射光蛍光X線分析( $\mu\text{-X-ray fluorescence}$ , XRF)による元素イメージングを行った(SPring-8 課題番号2012B1550)

コシアブラおよびヤナギにおけるストロンチウム集積遺伝子の探索

ストロンチウム集積に関連する遺伝子群を同定するため、次世代シーケンサーによる発現解析を行った。コシアブラについてはライブラリー作成用のためカルス誘導と再分化体作成の条件を探った。ヤナギについては表皮部分よりRNAを抽出した後、次世代シーケンサーによる発現解析を行った。

コシアブラの放射性セシウム集積における菌根菌の役割

根における菌根菌の共生と放射性セシウム<sup>137</sup>Csの集積との関連について調査した。

### 4. 研究成果

コシアブラにおける非放射性ストロンチウム集積パターンの調査

7地点70サンプルで各2元素の相関を出したが相関は出なかった。しかし、地点ごとで相関を出したところ、一部の元素同士に相関が出た。福井県勝山市の土壤中は、他の地点の3倍のセシウムが含まれていた。また、植物体中のセシウム量と土壤中のセシウム量がほぼ等しいのは、福井県勝山市と石川県加賀市のみで、他の地点では植物体中のセシウム量のほうが、土壤中のセシウム量に比べ多く含まれていた。相関を調べると、セシウムは、同じ1価のカリウムに相関があると予想されていた通り、相関関係があった。しかし、石川県加賀市のみ相関がなかった。これらのことから、石川県加賀市のサンプルに相関がないのは、土壤中のセシウム量が少なかったことと、セシウムが土壌と強固に結合しているためと予想された。

さらに、ストロンチウムとマンガンとカルシウムにそれぞれ相関があることが判明した。ただし、相関を持つ地点と持たない地点が存在した。これは、ストロンチウムとカルシウムとマンガンがそれぞれ競合し、それぞれの吸収を阻害し合っているため、相関を持たなくなったと考えられる。以上のことにより、セシウムはカリウム吸収経路から、ストロンチウムはマンガンまたはカルシウム吸収経路から吸収されると考えられる。

放射光によるヤナギ、タカノツメ、コシアブラのストロンチウム集積パターンの解明

野外で植物体を採集し、特に枝の樹皮と木部における金属の元素の分配に着目して分析

を行った。誘導結合プラズマ発光分析 (Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry, ICP-AES)法で各部位に含まれる Sr、Ca、Fe、Mn、Zn、Cu の定量分析を行ったところ、いずれの金属も木部より樹皮に高濃度で含まれていた。枝の凍結切片 (厚さ 50  $\mu\text{m}$ ) を作成し、放射光蛍光 X 線分析 ( $\mu\text{-X-ray fluorescence}$ 、XRF) を用いた元素イメージングを行った (SPring-8 課題番号 2012B1550)。いずれの木本植物の樹皮中にも Ca と Sr を含んだ結晶状の物質が観察された。エネルギー分散型 X 線元素分析装置を装着した走査型電子顕微鏡 (SEM - EDX : Scanning Electron Microscope - Energy Dispersive X-ray Spectroscopy) で分析したところ、結晶状物質は金平糖状の集晶で、Ca が高濃度で含まれていることが判明した。木本植物に吸収された Sr は、樹皮中で不溶性の結晶状物質を形成し、植物体内に長く留まる可能性があることが考えられた。一方、ラマン分光法および  $\mu\text{-XANES}$  スペクトルを用いて結晶中の Ca および Sr の化学形態の調査を試みたが、同定には至らなかった。

コシアブラおよびヤナギにおけるストロンチウム集積遺伝子の探索

コシアブラの遺伝子解析資材としてカルスからの再分化体形成を試みた。萌芽を採取、滅菌後、2,4-D および 6BA を添加した MS 培地に設置することで培養細胞の誘導に成功したが、最終的に個体まで再分化することができず、コシアブラの遺伝子解析については断念した。ヤナギ表皮部分から採取した RNA については三重大学遺伝子実験施設にある次世代シーケンサー Ion Proton を用い、樹皮で発現する遺伝子の RNA-seq による発現量解析を行った。得られた配列をポプラのゲノムを参照としてマッピングし、機能予測にはシロイヌナズナ、イネ、ブドウのアノテーションも利用した。その結果、Ca 結合性タンパク質などの候補遺伝子群が得られた。また、植物の Sr 集積・解毒機構が Cd のそれらと類似しているかを調べた。Sr 処理植物の HPLC 分析の結果、Cd 処理で生合成されるチオール化合物ファイトケラチン (PC) が検出された。このことから、植物における Sr の解毒機構は Cd 解毒と類似していることが考えられた。

コシアブラの放射性セシウム集積における菌根菌の役割

野外調査において、菌根菌の影響を調べるため川俣町の森林内で採取したコシアブラの根のセシウム  $^{137}\text{Cs}$  の分布と菌根菌の分布を比較したところ、菌根菌が多いところはセシウム  $^{137}\text{Cs}$  が多いことが示唆された。

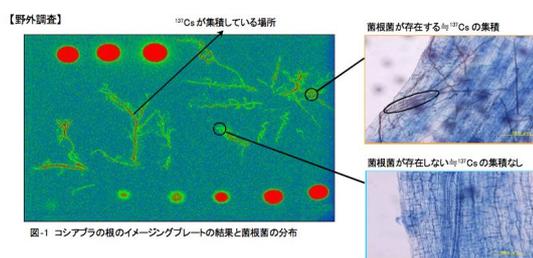


図-1 コシアブラの根のイメージングプレートの結果と菌根菌の分布

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 13 件)

1. Nishida S, Kato A, Tsuzuki C, Yoshida J, Mizuno T. Induction of nickel accumulation in response to zinc deficiency in *Arabidopsis thaliana*. *Int. J. Mol. Sci.*, 査読あり, 16, 9420-9430, 2015
2. Kanasashi T, Sugiura Y, Takenaka C, Hijii N, Umemura M. Radiocesium distribution in sugi (*Cryptomeria japonica*) in Eastern Japan: translocation from needles to pollen. *J. Environ. Radioactiv.*, 査読あり, 139:398-406, 2015
3. Umemura M, Takenaka C. Changes in chemical characteristics of surface soils in hinoki cypress (*Chamaecyparis obtuse*) forests induced by the invasion of exotic Moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) in central Japan. *Plant Species Biol.* 査読あり, 63, published online, DOI 10.1111/1442-1984. 12038. 2015
4. Mizuno T, Kirihata Y. Elemental composition of plants from serpentine soil of Sugashima Island, Japan. *Aust. J. Bot.* 査読有り, published online, 2014
5. Ayabe Y, Kanasashi T, Hijii N, Takenaka C. Radiocesium contamination

of the web spider *Nephila clavata* (Nephilidae: Arachnida) 1.5 years after the Fukushima Dai-ichi nuclear power plant accident. **J. Environ. Radioactiv.** 査読有り, 127: 105-110.2014

6. Umemura M, Takenaka C. Biological cycle of silicon in moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) forests in central Japan. **Ecol. Res.** 査読有り, 29:501-510. DOI 10.1007/s11284-014-1150-5. 2014

7. Umemura M, Takenaka C. Retranslocation and localization of nutrient elements in various organs of moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*). **Sci. Total Environ.**, 査読有り, 493 : 845-853. 2014

8. Hikaru Kowata, Yoshiyasu Nagakawa, Noboru Sakurai, Akiko Hokura, Yasuko Terada, Hiroshi Hasegawa and Emiko Harada. Radiocesium accumulation in *Egeria densa*, a submerged plant – possible mechanism of cesium absorption. **J. Anal. At. Spectrom.**, 査読有り, 29, 868-874, 2014

9. Fernando DR, Marshall A, Baker AJM, Mizuno T. Microbeam methodologies as powerful tools in manganese hyperaccumulation research: present status and future directions. **Front. Plant Sci.**, 査読有り, 4, 1-9, doi: 10.3389/fpls.2013.00319, 2013.

10. Mizuno T., Emori K, Ito S. Manganese hyperaccumulation from no-contaminated soil in *Chengiopanax*

*sciadophylloides* and its correlation with calcium accumulation. **Soil Sci. Plant Nutri.**, 査読有り, 59, 591-602, 2013

11. 岩瀬香・富岡利恵・杉浦祐樹・金指努・竹中千里 スギとコナラ樹皮におけるセシウム吸着特性について、森林立地, 査読有り, 55, 69-73. (2013)

12. Nishida S, Aisu A, Mizuno T. Induction of IRT1 by the nickel-induced iron-deficient response in *Arabidopsis*. **Plant Sign. Behav.**, 査読有り, 72,1-3, 2012

13. Tomioka R., Takenaka C., Maeshima M, Tezuka T, Kojima M, Sakakibara H. Stimulation of root growth induced by aluminum in *Quercus serrata* Thunb. is related to activity of nitrate reductase and maintenance of IAA concentration in roots. **Am. J. Plant Sci.**, 査読有り, 3, 1619-1624, 2012

〔学会発表〕(計16件)

1. 原田英美子, 庄美冴子, 木村ひろみ, 森卓弥, 稲田和幸, 竹中千里, 富岡利恵, 保倉明子, 寺田靖子, 水野隆文 ヤナギ (*Salix* spp.) 樹皮におけるストロンチウム (Sr) 含有結晶の生成機構 日本農芸化学会 2015年度大会 2015年3月27日 岡山(岡山大学)

2. 岡野由季, 櫻井美鈴, 富岡利恵, 竹本大吾, 竹中千里 タカノツメの重金属集積特性と内生菌の関係 第62回日本生態学会大会 2015年3月18-22日 鹿児島大学

3. 出口世太郎, 竹中千里, 松田陽介, 杉浦祐樹, 小澤創, 緒方良至 放射性セシウムで汚染されたコシアブラの根系における根内共生菌の分布 第62回日本生態学会大会 2015年3月18-22日 鹿児島大学

4. 岡野由季, 櫻井美鈴, 富岡利恵, 竹本大吾, 竹中千里 タカノツメのZn, Cd集積特性と内生菌との関係 第4回中部森林学会大会

2014年10月25日 名古屋大学

5. 出口世太郎, 竹中千里, 松田陽介, 杉浦祐樹, 小澤創 放射性セシウムで汚染されたコシアブラの根系におけるアーバスキュラー菌根菌の分布第4回中部森林学会大会 2014年10月25日 名古屋大学

6. 原田英美子, 稲田和幸, 森卓弥, 木村ひろみ, 庄美冴子, 竹中千里, 富岡利恵, 保倉明子, 寺田靖子, ○水野隆文 木本植物におけるストロンチウム (Sr) 蓄積機構 日本植物学会第78回大会 2014年9月12日-14日 明治大学 生田キャンパス (神奈川県川崎市)

7. Seitaro Deguchi, Yuki Sugiura, Chisato Takenaka, Yosuke Matsuda, Takafumi Mizuno, Hajime Ozawa Distribution of arbuscular mycorrhizas within *Chengiopanax sciadophylloides* rootsystem contaminated with radiocesium. 6th International symposium on physiological processes in roots of woody plants. 8-13, Sep. 2014, Nagoya Univ. Japan.

8. Yoko Kirihata and Takafumi Mizuno. Chemical characteristics of the plants grown on serpentine soil of Suga Island .8th International Conference on Serpentine Ecology, June 9-13, 2014, Kota Kinabalu, Malaysia

9. Takafumi Mizuno, Kanae Emori, Rie Tomioka, Emiko Harada, Chisato Takenaka and Shin-ichiro Ito. Manganese hyperaccumulation from non-contaminated soil in *Chengiopanax sciadophylloides* and its correlation with calcium accumulation. 8th International Conference on Serpentine Ecology, June 9-13, 2014, Kota Kinabalu, Malaysia

10. Taiki Hori, Mai Matsushima, Takafumi Mizuno, Mineral properties of the plants grown on serpentine soil areas in Aichi and Wakayama prefectures. 第55回日本植物生理学会年会 2014年3月18-20日 富山大学 (富山)

11. Sho Nishida, Sayaka Aisu, Takafumi Mizuno, Toru Fujiwara Function analysis of the N-terminal transcatated form of NjZNT1, derived from a splicing variants in the Zn hyperaccumulator *Noccaea japonicum*. 第55回日本植物生理学会年会 2014年3月18-20日 富山大学 (富山)

12. Sho-Nishida, Junko Yoshida, Toshihiro Watanabe, Toru-Fujiwara, Takafumi Mizuno Characterization of

Nickel and Zinc Tolerance, Accumulation and Mineral Profile in the Metal Hyperaccumulator *Noccaea japonica* (*Noccaea cochleariforme*) 17th International Plant Nutrition Colloquium (IPNC), August 19-22, 2013, Istanbul / Turkey

13. 水野隆文・堀 太紀 東海・近畿地方の蛇紋岩土地帯における土壌の化学組成と植生、およびツゲのニッケル超集積について 日本土壌肥料学会 2013 大会 2013年9月11-13日 名古屋大学 (愛知)

14. 明渡 絵里朱, 平田 智子, 上井 和幸, 高木 裕子, 水野 隆文, 小林 真, 小池 孝良, 大和 勝幸, 秋田 求, 泉井 桂 和歌山県天然記念物キイシモツケの分子系統分類学および生理形態的性格付け: イワシモツケおよびトサシモツケとの比較 日本植物学会第76回大会 2012年9月15-17日 兵庫県立大学 (姫路)

15. 水野隆文・桐畑陽子 鳥羽市菅島の蛇紋岩質土壌に分布する植物の金属集積特性 日本土壌肥料学会 2012 大会 2012年9月4-6日 鳥取大学 (鳥取)

16. 愛須彩加・西田翔・水野隆文 タカネグンバイ由来 ZIP トランスポーター TjZNT1 の発現が酵母のニッケル耐性と亜鉛集積性に与える影響 日本土壌肥料学会 2012 大会 2012年9月4-6日 鳥取大学 (鳥取)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕

## ホームページ等

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

水野 隆文(MIZUNO, Takafumi)  
三重大学・大学院生物資源学研究科・  
准教授  
研究者番号：50346003

#### (2) 研究分担者

竹中千里 (TAKENAKA Chisato)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授  
研究者番号：40240808

原田 英美子(HARADA Emiko)  
滋賀県立大学・環境科学部・准教授  
研究者番号：20232845

富岡理恵 (TOMIOKA Rie)  
名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教  
研究者番号：40456588