アヤメ科植物によるカドミウムの吸収除去に関する研究

A Study of Phytoaccumulation for Cd by *Iris*

浅井 俊光* 宮本 れい** 水庭千鶴子** 近藤 三雄**

Toshimitsu ASAI Miyamoto REI Chizuko MIZUNIWA Mitsuo KONDO

Abstract : Recently the lower criterion on cadmium (Cd) concentrations for polished rice was suggested in CODEX. It is urgently necessary to find out the most effective phytoremediator to remove Cd from rice fields. We have selected *Iris pseudoacorus* L. and *Iris ensata* Thunb. for our study from the following reasons; *Iris pseudoacorus* L. is known for its high biomass and strong resistance to environmental impacts; *Iris ensata* Thunb. have been often planted in the rice field in fallow. Both species are recognized by their beautiful flowers, commonness, the low prices and the easiness of planting. This experiment is aimed to evaluate these two species as phytoremediators to remove Cd. These plants are planted into 1ppm, 10ppm, 100ppm Cd hydroponics for 7 days. In general, Cd uptake by plants increases according to the Cd level of the hydroponics. The Cd removal rates of *Iris pseudoacorus* L. are between 0.64 and 2.00% (g/DW), while those of *Iris ensata* Thunb. are between 0.48 and 4.33%. *Iris ensata* Thunb. showed the higher efficiency in the low Cd concentration, whereas *Iris pseudoacorus* L. indicated an advantage under the high Cd concentration. Both *Iris pseudoacorus* L. and *Iris ensata* Thunb. indicate high Cd concentration in their roots but low in their shoots.

Keywords: Phytoremediator, Cadmium, *Iris pseudoacorus* L., *Iris ensata* Thunb.

キーワード: ファイトレメディエーター, カドミウム, キショウブ, ハナショウブ

1. 研究の背景及び目的

近年 CODEX 委員会によって我が国における既存の玄米中カドミウム (Cd) 基準値 (1.0ppm) とは別に, 基準値を精米中に 0.4ppm (2005) 以下とする検討がなされている。比較的 Cd 濃度の高い土壌を保有する我が国では, 現在市場に出回っている米の数%が新たな汚染米となり¹⁾, 白米生産業者はもとより我が国の経済そのものに大きな影響を与える可能性が示唆されている。また非喫煙者の場合 Cd 摂取の大半が食品由来であり²⁾, 当然主食である白米からの摂取量は最大である。Cd はカルシウム代謝の阻害, 高カルシウム尿, 腎結石の生成を引き起こす原因物質であるとされ, 高濃度の Cd 摂取は栄養上の欠陥など他の要因と共存し, 骨粗鬆症及び骨軟化症を発症させるなど³⁾可能な限り体内への摂取は抑えるのが望ましい物質である。

現在, 玄米への Cd 吸収を抑制する手法としては客土法が一般的かつ効果的な手法として認められているが, コストや労力の面からファイトレメディエーションを始めとする様々な浄化手法の開発が急務となっている。ファイトレメディエーションでは既に様々な汚染物質に対して有用な植物が挙げられているが, 水田という特殊な環境下では生育に支障をきたす恐れや, 浄化期間が長期にわたりランニングコストやメンテナンスに大きな負担がかかる³⁾ものなど, いずれも水田の Cd 吸収除去に有効とはいえない。

そこで本研究では河川などで栄養塩類の浄化などにも使用され⁴⁾, 旺盛な生長力とバイオマスを有するキショウブ (*Iris pseudoacorus* L.) と実際に水田で植栽されるなど環境条件に合致し, コストも安価で修景効果も高く, 強健な植物として知られるハナショウブ (*Iris ensata* Thunb.) の 2 種類のアヤメ科植物を供試植物とし基礎的な Cd 吸収除去能力を明らかにする。また Cd 耐性の無い植物は枯死または著しく生育に支障をきたすことが報告されていることから⁵⁾, Cd による供試植物の植物体自体への生育阻害について, 肉眼による茎葉部及び根部の被害状況の観察と色彩色差計を用いた葉色の変化の観察, 並びに細胞レベル

での障害を見る一指標として位置付けられている電解質溶出率の測定^{9) 10)}を基に明らかにすることを目的とする。

2. 実験方法

(1) 実験区概要

供試植物の Cd 吸収除去能力を迅速に調べるため, 水耕液中の Cd 吸収除去実験を行った。キショウブとハナショウブは開花時期が異なるため, 生育周期から見て同一条件とするため, それぞれ花後の分けつ期⁶⁾に入ったと思われる時点で実験を開始した。つまり, キショウブは 2005 年 6 月 27 日から 7 月 4 日まで, ハナショウブは 2005 年 8 月 27 日から 9 月 3 日にかけて行った。実験場所は東京農業大学内温度調節ガラス室 (キショウブ実験時 平均気温 24.2±6.6℃ 湿度 57.5±20.8% ハナショウブ実験時 平均気温 29.1±4.4℃ 湿度 62.3±15.9%) にて行った。実験にはポリプロピレン製の容器 (200×200×100mm) を使用した。各実験区及び供試植物を写真-1 に示す。

(2) 供試個体

キショウブ, ハナショウブ共に市販のポット苗を用い, 生育が同程度のものを選び供試した。全ての供試植物は 1 株ずつ発泡スチロールに穴を開けたものに固定し, 3 反復実験を行った。供試植物は水耕液中で 7 日間の養生を行った後, 先行研究⁷⁾を参考に 7 日間の Cd 処理を行い, 濃度の違いによる Cd 吸収除去実験を行った。

(3) 水耕液及び Cd 濃度

養生期間中の水耕液は大塚ハウス肥料 1 号 [保証成分 (%) N 10.0 P₂O₅ 8.0 K₂O 27.0 MgO 4.0 MnO 0.10 B₂O₃ 0.10 配合成分 (%) Fe 0.18 Cu 0.002 Zn 0.006 Mo 0.002], 同 2 号 [保証成分 (%) N 11.0 配合成分 (%) CaO 23.0] を用い, 汎用性の高い処方 (1000 当たり 1 号 1500g : 2 号 1000g) を採用し各容器に 3 入れた。植物体の蒸発散に伴う水耕液の減少分は純水を添加し, 総量が常に 3 となるよう調整した。水質の維持は pH5.5~6.0, EC2.2dS/m 程度に各容器の水耕液を一定に保ち,

*東京農業大学大学院農学研究科 **東京農業大学地域環境科学部造園科学科

写真-1 各実験区の供試植物

全ての実験区で連続的にエアープンプ及びエアーストーンを使用し、水耕液内に直接エアレーション（1.0 / min）を行った。実験に使用する水耕液のCd濃度は、Cd耐性を持たない植物は100 μ M(11.24ppm)前後で枯死や生育に支障をきたす報告⁵⁾やホテイアオイが100ppm以上で急性毒性⁸⁾を示した報告もあることから、1ppm, 10ppm, 100ppmの3段階に設定し、各実験区の設定濃度になるように、塩化カドミウム（CdCl₂）水溶液を純水に添加し使用した。またCd無施用区（対照区）も設置した。

(4) Cdの定量方法

植物体からのCd抽出は植物体を茎葉部と根部に切り離し、植物体に直接付着した水溶液中のCdを完全に除去するため中性洗剤を用いて洗浄後、超純水で十分に濯ぎを行った後、ドライオーブンで試料を完全乾燥後、粉碎した。乾燥試料1gを硫酸-過酸化水素水にて湿式灰化処理を行い、原子吸光光度計（島津製作所製 AA-680）にて茎葉部と根部のCdの定量を行った。

(5) 色彩色差計での測定

Cdによる供試植物の葉色の変化を肉眼による観察だけではなく、色に関するパラメーターの変化から明らかにするため、葉の色調、色度を計測した。測定は各ポットの供試植物を色彩色差計（ミノルタカメラ販売（株）製 CR-200b）のL*a*b*表色系を用い、茎葉部を無作為に9点選出し添加前後で測定した。測定結果は各実験区の明度指数L*、クロマティクネス指数a*、b*とそれらから算出した彩度C*{C*=(a*²+b*²)^{1/2}}の平均値を用いて表した。

(6) 電解質溶出率の測定

Cdによる供試植物への影響を細胞レベルで見える一指標として電解質溶出率を求めた。養生を開始して7日目とCdを添加して7日目の計2回、茎葉部に直径5mmのパンチで5枚のリーフディスクを採取し、100mlの蓋付きバイアル瓶に超純水を30ml加え、暗室10下で24時間静置後、25℃下で30分間の振盪により電解質を水中に拡散させ電解質溶出量（T₁）をECメーター（DKK・TOA CM-60G）で測定した。その後オイルバスで15分間煮沸し、再度電解質溶出量（T₂）を測定⁹⁾¹⁰⁾し、このT₁/T₂の値を電解質溶出率（%）とした。この値が大きいくほど細胞が被害を受けている可能性が高いことを示す⁹⁾。

3. 実験結果及び考察

(1) 供試植物体内のCd濃度、Cd集積割合

Cd処理濃度1, 10, 100ppmの溶液中で1週間生育した後のキシウブ及びハナショウブの1個体当たりの茎葉部及び根部のCd濃度とCd集積割合を実験区ごとにまとめたものを、それぞれ図-1, 2に示す。

キシウブ、ハナショウブ共に実験区の水耕液中のCd濃度が

図-1 キシウブ体内のCd濃度

図-2 ハナショウブ体内のCd濃度

高まるにつれて茎葉、根共に体内のCd濃度は顕著に増加した。キシウブの1ppm区では、その処理濃度に対して茎葉部で3.1倍、根部で90.2倍、10ppm区では茎葉部で11.2倍、根部で73.0倍、100ppm区では茎葉部で4.9倍、根部で29.4倍であり、設定した処理濃度に対して茎葉部では10ppm区、根部では1ppm区が最もCd集積割合が高く、ハナショウブの1ppm区では、その処理濃度に対して茎葉部で6.2倍、根部で301.2倍、10ppm区では茎葉部で0.9倍、根部で86.7倍、100ppm区では茎葉部で1.8倍、根部で29.5倍であり、設定した処理濃度に対して1ppm区の茎葉部と根部で最もCd集積割合が高い結果となった。

(2) 供試植物の乾燥重量及び植物体中Cd重量、Cd除去率

Cdの定量後にキシウブ及びハナショウブのCd除去能力を数値によって比較するため、供試植物の1個体及び単位乾燥重量

表-1 植物体中Cd重量及びCd除去率を求める算定公式

$$\begin{aligned} \text{単位乾燥重量1g当たりの植物体中Cd重量(mg・gDW}^{-1}\text{)} &= \frac{\text{植物体中Cd濃度(mg・kg}^{-1}\text{)}}{1000} \\ \text{1個体当たりの植物体中Cd重量(mg)} &= \frac{\text{単位乾燥重量1g当たりの植物体中Cd重量(mg・gDW}^{-1}\text{)}}{\text{植物体中Cd重量(mg・gDW}^{-1}\text{)}} \times \text{1個体当たりの乾燥重量(gDW)} \\ \text{単位乾燥重量1g当たりのCd除去率(\%)} &= \frac{\text{単位乾燥重量1g当たりの植物体中Cd濃度(mg・kg}^{-1}\text{)}}{\text{植物体中Cd重量(mg・gDW}^{-1}\text{)}} \div \frac{\text{1ポット当たりの混入Cd重量(mg)}}{\text{植物体中Cd重量(mg・gDW}^{-1}\text{)}} \times 100 \\ \text{1個体当たりのCd除去率(\%)} &= \frac{\text{1個体当たりの植物体中Cd重量(mg)}}{\text{植物体中Cd重量(mg・gDW}^{-1}\text{)}} \div \frac{\text{1ポット当たりの混入Cd重量(mg)}}{\text{植物体中Cd重量(mg・gDW}^{-1}\text{)}} \times 100 \end{aligned}$$

表－2 各供試植物の乾燥重量及び植物体中 Cd 重量，除去率

供試植物名	実験区	1ポット当たりの 混入Cd重量(mg)	1個体当たりの植物体中Cd重量(mg)			1個体当たりの乾燥重量(gDW)*			単位乾燥重量1g当たりの 植物体中Cd重量(mg・gDW ⁻¹)			単位乾燥重量1g 当たりのCd除去率(%)	1個体当たりの Cd除去率(%)
			全体	茎葉部	根部	全体	茎葉部	根部	平均値**	茎葉部	根部		
キシウブ	1ppm区	3.00	0.847	0.015 (1.8)	0.832 (98.2)	14.09	4.85	9.24	0.060	0.003	0.090	2.00	28.23
	10ppm区	30.00	5.976	0.421 (7.0)	5.555 (93.0)	11.37	3.76	7.61	0.526	0.112	0.730	1.75	19.92
	100ppm区	300.00	18.745	2.040 (10.9)	16.705 (89.1)	9.81	4.13	5.68	1.911	0.494	2.941	0.64	6.25
ハナショウブ	1ppm区	3.00	1.482	0.040 (2.7)	1.442 (97.3)	11.41	6.62	4.79	0.130	0.006	0.301	4.33	49.40
	10ppm区	30.00	4.638	0.043 (0.9)	4.595 (99.1)	10.08	4.78	5.30	0.460	0.009	0.867	1.53	15.46
	100ppm区	300.00	15.705	1.093 (7.0)	14.612 (93.0)	11.00	6.04	4.96	1.428	0.181	2.946	0.48	5.24

注1) 数値は3反復実験による平均値 注2) ()内は1個体当たりの植物体中Cd重量(mg)の全体に対するパーセンテージ

* 全ての実験区は5%水準で有意差無し(Duncan)

** 茎葉部と根部を合わせ算出した単位乾燥重量1g当たりのCd重量の平均値 = 1個体当たりの植物体中Cd重量の全体 / 1個体当たりの乾燥重量の全体

1g 当たりの植物体中 Cd 重量 (mg) 求め、さらに 1 ポット当たりの混入 Cd 量からどの程度 Cd を除去したかを表すため、植物体の大きさに影響されない単位乾燥重量 1g 当たりの Cd 除去率 (%) ¹¹⁾ と実際の Cd 除去率に当たる 1 個体当たりの Cd 除去率 (%) ¹²⁾ を 4 つの式から求めた (表-1)。各実験区の実験終了時の 1 個体当たりの乾燥重量 (gDW)、1 個体及び単位乾燥重量 1g 当たりの植物体中 Cd 重量 (mg) さらに単位乾燥重量 1g 及び 1 個体当たりの Cd 除去率 (%) を求めた結果を表-2 に示す。

1 個体当たりの植物体中の茎葉部と根部の Cd 重量 (mg) から各供試植物の部位別の Cd の吸収割合を求めた結果、キシウブでは 7 日間で植物体中へ吸収された Cd の内、処理濃度 (実験区) によって若干異なるが 1.8~10.9% が茎葉部に、ハナショウブでは 0.9~7.0% が茎葉部に吸収されていた。

以上のことから短期間の Cd 吸収除去実験ではキシウブ、ハナショウブ共に植物体中 Cd のほとんどが根部に吸収され、特にハナショウブにおいてその傾向が大であることが明らかとなった。

単位乾燥重量 1g 当たりの Cd 除去率 (%) はキシウブ、ハナショウブ共に 1ppm 区で最も除去率が高い結果となった。また 1ppm 区ではハナショウブの吸収除去率が高かったが、10ppm 区や特に 100ppm 区では後述する Cd 処理による様々な生育障害が現れキシウブの単位乾燥重量 1g 当たりの Cd 除去率 (%) や 1 個体当たりの Cd 除去率 (%) でも下回る結果となった。ちなみに前回報告 ¹¹⁾ したアジュガ、ミゾソバの単位乾燥重量 1g 当たりの Cd 除去率 (%) と比較するとキシウブ、ハナショウブ共に全ての実験区において高い結果となり、さらに 1 個体当たりの Cd 除去率 (%) に換算し比較すると植物体が大きく、その乾燥重量が大であるキシウブ、ハナショウブは全ての実験区でアジュガやミゾソバのそれを大きく上回る結果となった。特にハナショウブの 1ppm 区の 1 個体当たりの Cd 除去率 (%) はアジュガの 28.6 倍、ミゾソバの 19.6 倍。キシウブの 1 個体当たりの Cd 除去率 (%) は 10ppm 区でアジュガの 39.1 倍、ミゾソバの 48.6 倍。100ppm 区でアジュガの 12.5 倍、ミゾソバの 27.2 倍と非常に高い結果となった。

(3) 供試植物の Cd による生育への影響

供試植物の Cd による生育への影響を茎葉部及び根部の変化から観察するため、肉眼による茎葉部及び根部の観察を行った結果、キシウブは全ての実験区で肉眼で確認できるような生育被害は認められなかったが、ハナショウブでは 100ppm 区の供試した個体全てに茎葉部の黄化現象や茎葉部の一部に枯損あるいは萎れが見られ Cd による生育障害が確認された。(写真-2, 3) なお根部に関しては全ての実験区で肉眼で確認できるような生育被害は認められなかった。

したがって色彩色差計を用いた葉色の測定でもキシウブは各実験区共に顕著な葉色の変化は認められず、ハナショウブの 100ppm 区でのみ色調はあざやか (vivid) の方向へ傾き、色度では黄方向への傾きが確認された。(図-3, 4)

写真－2 実験終了時のハナショウブ（対照区）

写真－3 実験終了時のハナショウブ（100ppm 区）

各供試植物の Cd による細胞への影響を明らかにするため、各供試植物の電解質溶出率 (%) を測定した結果を表-3 に示す。キシウブでは Cd 添加前、後ともに対照区と各濃度区で電解質溶出率 (%) に大きな差はなかったが、ハナショウブでは Cd 添加後、100ppm 区でのみ対照区及びその他の区よりも電解質溶出率 (%) は高い値を示し、細胞レベルでも Cd による生育への影響が現れていることが確認された。

以上のことから 7 日間の Cd 処理でキシウブは 100ppm でも生育障害を受けず、一方、ハナショウブは 100ppm でかなりの生育障害が認められることが明らかとなった。

図-3 Cd添加前後のハナショウブの色調

図-4 Cd添加前後のハナショウブの色度

表-3 各供試植物のCd施用前後の電解質溶出率(%)

供試植物名	実験区	Cd施用前	Cd施用後
キショウブ	対照区	10.36 a	11.92 a
	1ppm区	11.09 a	13.13 a
	10ppm区	17.28 a	14.41 a
	100ppm区	10.57 a	16.30 a
ハナショウブ	対照区	11.28 a	14.86 a
	1ppm区	11.18 a	12.17 a
	10ppm区	10.20 a	11.47 a
	100ppm区	10.31 a	22.24 b

注1) 数値は3反復実験による平均値

注2) 異なるアルファベット間は5%水準で有意(Duncan)

なお、本実験は2種の異なる植物の生育周期を合わせることを意図して実験を行った結果、実験時期と温度条件が異なり、そのことによって厳密に言えば蒸散速度などの生理作用も影響を受け、Cdの吸収量や生育阻害の程度にも若干、影響が出たと考えられなくもないが、類似の研究事例もなく、この点の究明は次回の研究課題としたい。

4. 結論

開花後の分けつ期に入っと思われる時期における7日間のCd処理実験の結果、キショウブ、ハナショウブ共に茎葉部よりも根部のCd吸収量が極めて大きいことが明らかとなった。各供試植物の単位乾燥重量1g当たりのCd除去率(%)では1ppm区でハナショウブがキショウブよりも高い除去率を示したが、実験区のCd処理濃度が10ppm区、100ppm区と高まるにつれてハナショウブはキショウブより除去率が下回る結果となった。

各供試植物のCdによる生育への影響は、ハナショウブは

100ppm区において黄化現象や電解質溶出率(%)など茎葉部の葉色や細胞レベルでの顕著な生育阻害が現れたのに対し、キショウブは目立った生育阻害は確認されなかった。

以上のことから各供試植物を比較すると、本実験の設定の範囲内ではCd耐性についてはキショウブが優れ、ハナショウブに生育阻害が発現するような高濃度のCd汚染地などに対して導入が可能となる。一方、ハナショウブは生育阻害が現れない低濃度のCd汚染地ではキショウブよりも効率的な浄化が期待できると考えられる。さらに前回の報告においてCd除去率が高いHyper-accumulator(重金属超集積性植物)とされたアジュガ、ミゾソバに比べて単位乾燥重量1g当たりのCd除去率(%)は全ての実験区で高い結果となった。さらにキショウブ、ハナショウブ共に植物体が大きく、その乾燥重量が大であるため、実際のCd除去率に当たる1個体当たりのCd除去率(%)では大きく上回り、Cdのファイトレメディエーターとして極めて有望であることが示唆された。

今後の課題として、生育周期や温度条件の違いとCd吸収量、生育阻害の程度との関係の究明、並びにCd処理濃度期間を長く設定し、Cdの茎葉部や根部への集積度合いや割合についてさらに詳しく解明を進め、茎葉部への集積度合いなどが増加するようであれば刈り取り再生を、変化がない場合は茎根とも除去することを想定した検討をしていきたいと考えている。

引用・参考文献

- 1) 独立行政法人農業環境技術研究所ホームページ : <http://ss.niaes.affrc.go.jp/magazine/064/mgzn06406.html>, 2005.8.1 更新. 2005.10.20 参照
- 2) 国立医薬品食品衛生研究所ホームページ : <http://www.nihs.go.jp/DCBI/PUBLIST/ehchsg/ehctran/tran1/cadmium.html>, 1997.1.7 更新. 2005.10.10 参照
- 3) 杉山 恵・阿江教治(2004): カドミウム汚染土壌に対するファイトレメディエーションの有効性と問題点: 第21回土・水研究会資料 農耕地における重金属汚染土壌の修復技術の現状と課題: 独立行政法人農業環境技術研究所, 8-14
- 4) 田村良三・北嶋永一・王沢 斌(2002): 植物を利用した水質浄化システム(第4報) - 水質浄化に適する植物及び水路の自浄作用 - : 新潟県保健環境科学研究所年報第17巻, 89-93
- 5) 今中忠行・森川弘道・斎藤和季・佐治 光・中里広幸・長谷川功・西村 実(2000): 植物による環境負荷低減技術: NTS, 189-204
- 6) 富野耕治(1975): NHK 趣味の園芸 作業12か月...②ハナショウブ: NHK 出版, 2-5
- 7) Fumie Shinmachi, Yuki Kumanda, Akira Noguchi and Isao Hasegawa (2003): Translocation and accumulation of cadmium in cadmium-tolerant polygonum thunbergii: Soil Science Plant Nutr., 49(3), 355-361
- 8) O'Keeffe D. H., Hardy J. K., Rao R. A., (Univ. Akron, OH) (1984): Cadmium uptake by the water hyacinth: Effects of solution factors.: Environmental Pollutant Ser A., 34(2), 133-147
- 9) 今田成雄(2003): 高温環境下における野菜の生理・生体反応: 農業及び園芸 78 (8), 858-863
- 10) 岡部昭典: 一枚の葉からホウレンソウの耐暑性を評価する: 独立法人農業・生物系特定産業技術研究機構ホームページ: <http://www.cgk.affrc.go.jp/news/127/kenkyuu3/kenkyuu3.html>, 1999 更新. 2004.10.1 参照
- 11) 浅井俊光・高橋良和・水庭千鶴子・近藤三雄(2005): アジュガ(Ajuga reptans L.)による水耕液中のカドミウムの吸収除去に関する研究: ランドスケープ研究 68(5), 537-540
- 12) 浅見輝男(2001): データで示すー日本土壌の有害金属汚染: アグネ技術センター, 132-133