

ダイズ幼植物の重金属吸収と挙動（第1報）Cdの吸収

山本満寿夫

緒 論

近年の重金属元素による環境汚染問題は、特殊な排出源である鉱山、精練所、重金属関連工場などよりも一般家庭から排出される重金属元素が問題になりつつある。したがって種々の重金属が広範囲で徐々に増加する性質のものであるため、従来の土壌汚染防止法による対策がとりにくい¹⁾といわれる。

植物にたいする重金属元素の影響は、環境汚染問題ばかりでなく、栄養生理についてもその毒性や体内への集積などについて数多くの報告がなされているが、本来植物は根から土壌溶液中に溶解している形態の元素を吸収して、茎、葉、子実などに移動分布させ生長に利用する。そして多くの重金属元素が必須性と過剰吸収による生育阻害の両面をもっているが、Cdは衆知のとおり生体にとって有害な重金属元素である。そこで今後増加が予想され問題とされる家庭雑排水汚泥、下水汚泥等を農地還元しようとする見地から、汚泥中に相当量含有されるCd²⁾³⁾の土壌-植物系における挙動についての情報が求められている。ところが現在、土壌中の重金属元素の存在形態別分布の測定について評価する方法が確立されていない。著者ら⁴⁾もそれについて試みた経験があるが、特に可給態画分を厳密に評価する方法として、何らかの溶媒で抽出される方法よりも、植物分析による方法がよいと結論づけている研究者も多く、渡部ら⁵⁾は、溶媒抽出と植物の組織中濃度あるいは生育状態の関係からその妥当性を評価している。

本報では、重金属耐性が小さいといわれるダイズ幼植物⁶⁾に、比較的低濃度のCd溶液を吸収させて、体内の各器官における吸収・蓄積等の挙動について検討し、今後の課題である、実際に汚泥等を施用した土壌で生育させたダイズ植物分析値を評価するための知見とすることを目的に研究を行った。さらにCd吸収に伴う他の元素についてもその挙動をみた。

実験材料および方法

1988年12月3日、ダイズ種子（品種：コガネダイズ）200粒を水耕装置上に播種し、発芽後 Hoagland の1/2強度水耕液（Cd無添加）を与えた。23日間栽培して初生葉展開時に生育均一な個体を選び、1ポット（ポリエチレン製）あたり8個体を6ポットのCd溶液中に移植した。Cd溶液は原子吸光分析用のCd標準液（CdCl₂）を段階的に希釈後、NaOH溶液を添加してpHを5.5に調整した。その濃度区は0.00ppm, 0.15ppm, 0.33ppm, 0.43ppm, 0.66ppmの5段階で、他にCaによるCd吸収抑制効果をみる目

的で、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.5mM を添加した Cd 濃度 0.93ppm 区を設けた。Cd 処理は25°C、1200lux のコイトロン中で4日間エアポンプ（コントローラータイマーで1時間間隔で1分間）で空気を送りながら処理をした。また Cd 処理開始前の個体を対照区として、植物体を器官別（根、茎+葉柄、初生葉、生長部）に分けて重量を測定後、葉および茎の一部を-20°Cで冷凍保存し残りは80°Cで乾燥させて分析に供した。なお処理開始時の Cd 溶液濃度については、溶液の一部をただちに採取し ICP 発光分光分析法で測定した。前記の各区の濃度はその実測値である。

分析方法：乾燥試料を乳鉢で粉細し約0.25gを精秤してビーカーにとり、 HNO_3 5ml、 HClO_4 5mlを加えてホットプレート上で加熱分解を行い、内容物がシラップ状になるまで加熱を続けた後ビーカーをおろし冷却、ビーカーの壁を少量の水で洗った後再度加熱し HClO_4 の白煙が十分発生したらビーカーをおろして冷却した。その後 N-HClを加えて溶解してろ過後25mlに定容した。これを試料溶液として ICP 発光分光分析法で表1に示した波長により測定を行った。使用した ICP 発光分光分析装置は、セイコー電子工業株式会社製の SPS 1200 シェンシャルシステムで 3600/mmのホログラフィック平面回折格子をもち、測定範囲は175-500nmである。

表1 測定元素と波長 (nm)

ELE.	WAVE.
Mo	202.030
P	213.618
Zn	213.856
Cd	228.847
B	249.678
Fe	259.940
Mg	279.553
Cu	324.754
Ca	396.847

クロロフィルの定量は、生葉および茎0.2gを80%エタノールとともにガラスホモジナイザーで磨砕し、遠心分離で得られた上澄液を665nmにおける吸光度を測定して求めた。

実験結果と考察

1) ダイズ幼植物による Cd 吸収実験（予備実験）

図1は、実験に先立ってダイズ初生葉乾燥試料（約0.25g）に Cd 標準液を添加してその回収率を検討した結果を示した。Cd 濃度 0.1~3.0ppmの間に乾燥試料について14点の標準液を添加して前記の方法に従って分解、測定を行った。その結果、0.1~1.5ppmの間に直線性($r^2=0.998^{***}$)がみられたがそれ以上の濃度になると直線性が低くなり下に曲がる傾向を示した。0.1~1.5ppmの間の理論値にたいする実測値、すなわち回収率は90.71%であった。また茎+葉柄、根についても1.0ppmの Cd 溶液を添加して回収率を検討した結果も直線上にのり、初生葉と同様の結果を示した。以後の測定は1.5ppmまでの直線範囲を使用して分析を行ない、得られた値は補正をした。

本実験は、今後汚泥等を還元した土壌における可給度をみる目的で、比較的低濃度(1ppm以下)の Cd 濃度におけるレスポンスをみるために研究を行なったが、あらかじめ予備実験として Cd 濃度 0.0~3.0ppmの間に5段階の濃度を設け、Cd 溶液がダイズ幼植物体内にどのように移行するか見当づけをした。

図2は1988年6月、17日間水耕栽培したダイズ幼植物に4日間 Cd 処理を行った結果である。横軸に Cd 処理濃度、縦軸にダイズ幼植物1個体当りの含量を器官別に示した。なお処理開始時の pH を図中に記した。また4日間溶液の交換、曝気等の処理は行わな

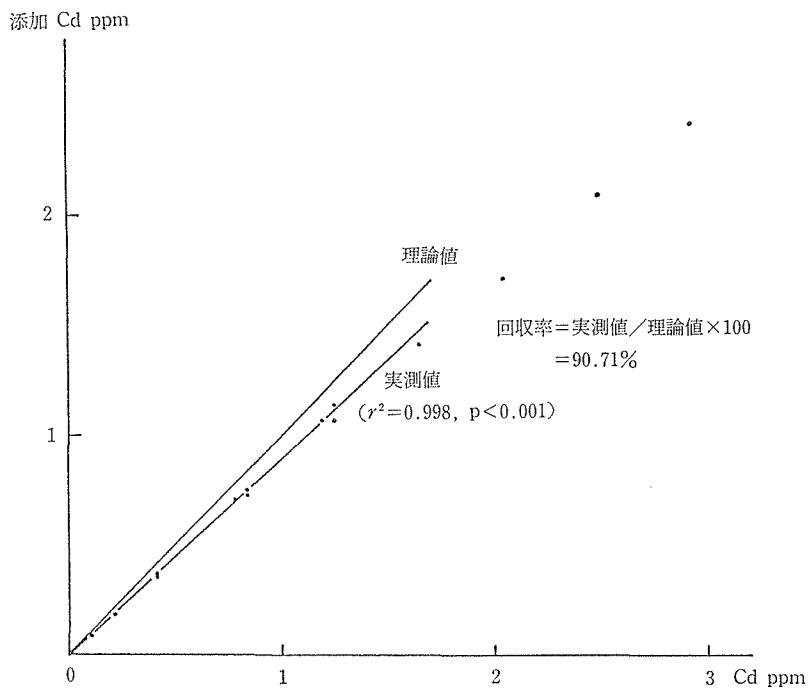


図1 ダイズ初生葉乾燥試料にCd標準液を添加した時の実測値と回収率

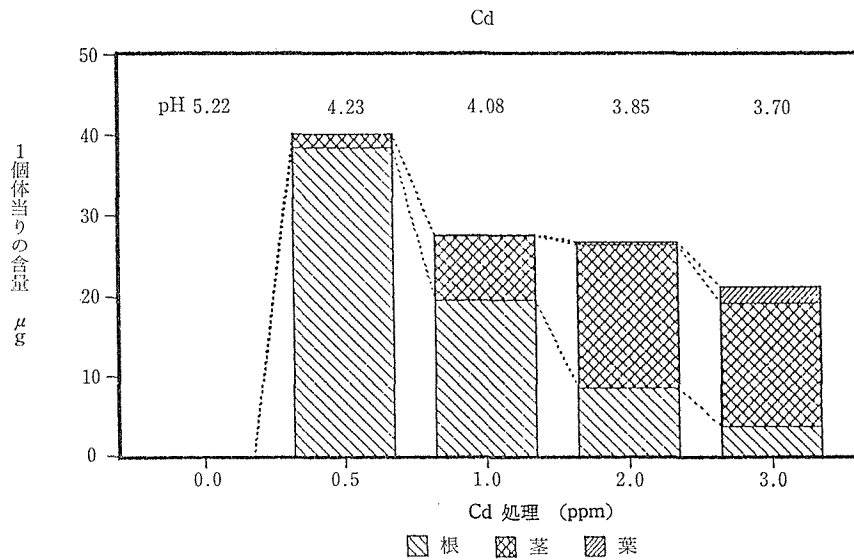


図2 ダイズ幼植物によるCd吸収実験（予備実験）

かった。

その結果、ダイズ幼植物の根においては添加 Cd 濃度のより低い区において吸収する割合が高く、濃度が高くなるにつれて吸収率は低くなった。一方器官上部、茎への移行性は1.0ppm 区, 2.0 ppm 区と順に高くなり3.0ppm 区では頭打ち傾向を示したが、全吸収量のうち10%弱が葉にまで移行してクロロシス状態を呈した。以上の結果から pH の影響ならびに Cd 溶液の嫌気状態の可能性等が推測されたために、本実験ではその点を考慮して前記の実験設計を行った。以下は本実験の結果である。

2) 新鮮物重量と乾物重量

ダイズ1個体当りの新鮮物重量を図3に示した。横軸に対照区と Cd 処理をした各区を示し、縦軸には1個体当りの重量を器官別に示した。1個体当りの新鮮物重量は約2.5~3.2g で、対照区に比較して重量が減少した区は Cd 添加濃度 0.66ppm 区のみで、

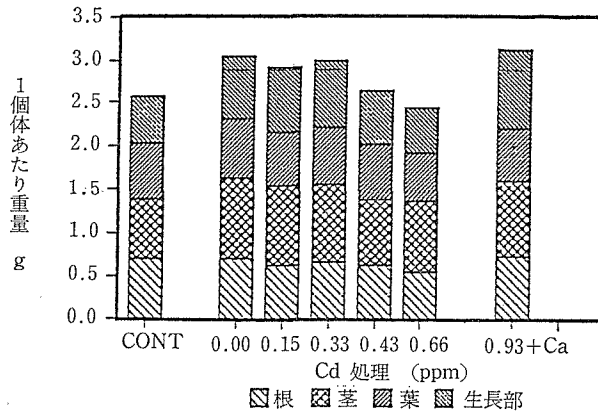


図3 Cd 溶液添加と新鮮物重量

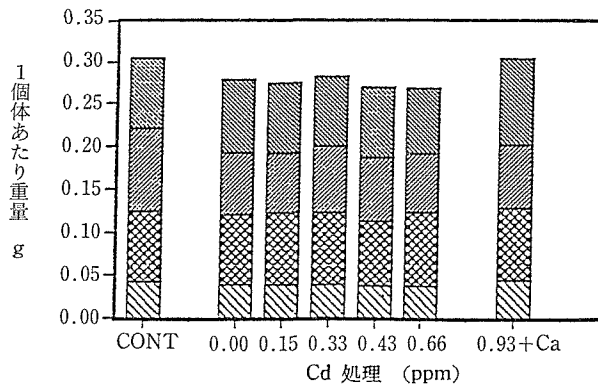


図4 Cd 溶液添加と乾物重量

その他の区では増加を示した。特に Ca を添加した 0.93ppm 区（以後 Ca 添加区とする）の増加が顕著であった。しかし 0.33ppm 区を除くと、新鮮物重量は Cd 添加濃度の増加に伴い減少する傾向を示し、器官別では生長部の減少が他の器官に比べてやや大であった。それに対して Ca 添加区では反対に生長部の増加が著しかった。

図4は、乾物重量を新鮮物重量と同様に示した。縦軸スケールは新鮮物重量の1/10で、対照区と Ca 添加区がほぼ同様の乾物重量を示したが、それに比べて他の5区は全体にやや低く、また Cd 添加濃度が増加しても乾物重量はあまり変化がなかった。器官別では Ca 添加区の生長部の増加が大で、新鮮物重量の増加を反映していた。また対照区に比べて他の6区で葉の重量が全体的に減少する傾向がみられた。

3) クロロフィル含量

図5は、初生葉と茎のクロロフィル含量を対照区および他の6区について、1個体当りで示した。その結果、初生葉（1個体、2葉）は対照区の値が高く、Cd 添加濃度が増加すると共に減少して、新鮮物重量で示された傾向をより明確にしている。特に0.66 ppm 区では対照区のおよそ1/4、また0.00ppm 区の1/3に減少した。また Ca 添加区も対照区に比べ約1/2の減少を示した。それに対して茎のクロロフィル含量は、0.66ppm 区を除く他の区が対照区とほぼ類似した値を示した。以上の結果より Cd 添加濃度 0.43 ppm 区までは茎には影響が少ないが、葉に対しては影響が明確で、本実験のように比較的低い濃度範囲でも生育に障害をもたらし、発現の程度に差異が生じる事を示唆する結果であった。

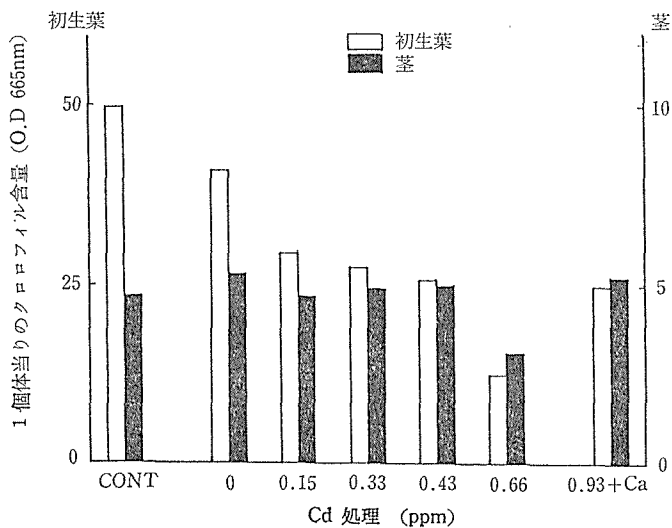


図5 Cd 溶液添加とクロロフィル含量

4) 対照区ダイズ幼植物中のP、B及び金属元素含量

図6は、1/2強度の Hoagland 水耕液で23日間栽培したダイズ対照区個体中の P、B

及び金属元素 (Cd, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mo) 含量を器官別に測定した結果を示した。その結果 Hoagland 水耕液には Cd は無添加であるために、ダイズ幼植物体中に Cd は検出されなかった。全体的に P, Ca, Mg が個体当り1~2.5mg と値が高く、そして Zn, Fe が40 μ g 前後、ついで Cu, Mo, B がさらに値が一桁低く1~4 μ g であった。これらの結果を器官別に個体当りの相対値で見ると、比較的根に吸収蓄積される割合の高い元素は Zn, Fe で、ダイズ幼植物全体の約60%を占め、ついで Mg, Cu, Mo が30%, P, Ca, B は低く、特にBは5%以下であった。茎についてみると Mo の割合が40%と高く、次に P, Ca, B が30%弱、根に蓄積する割合の高い Zn, Fe は10%前後と逆に値が低かった。また葉及び生長部に蓄積する割合の高い元素は B, Ca, P そして Cu, Mg 等が次に続き、Mo, Zn はおよそ 25% であった。また比較的類似した挙動をとる元素は、PとCu, Ca とB, Zn と Fe であった。

5) ダイズ幼植物の Cd 吸収

図7は、ダイズ幼植物に移行・吸収した Cd 含量を1個体当たりについて器官別に示

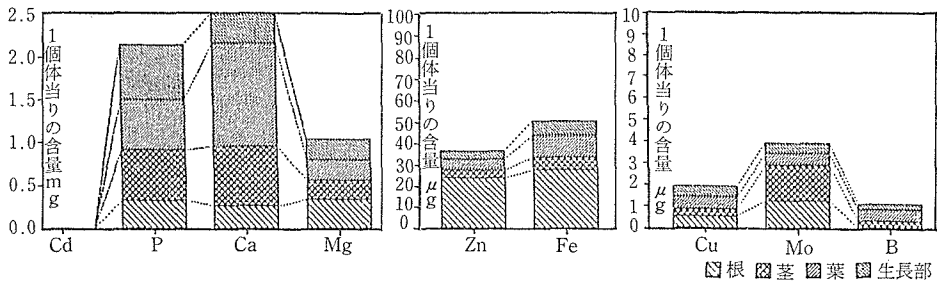


図6 対照区ダイズ幼植物中のP, B及び金属元素含量

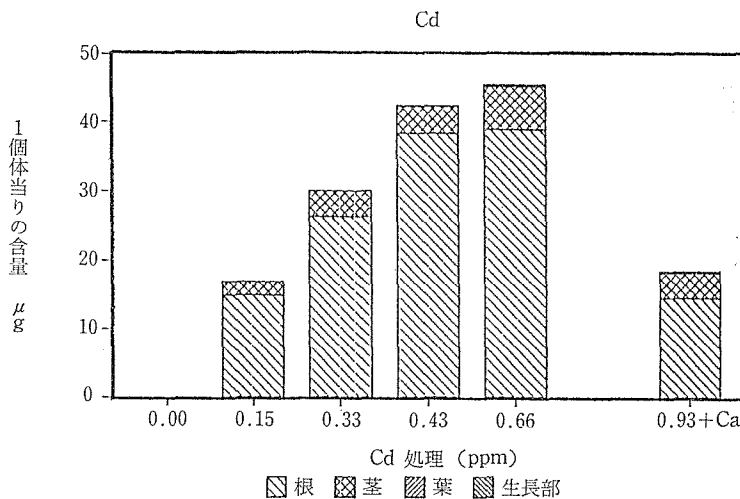


図7 ダイズ幼植物のCd吸収

した。その結果、Cd 溶液濃度の増加に伴ってダイズ幼植物体内への移行・吸収量は0.43ppm 区まで直線的 ($r^2=0.986^{***}$) に増加した。器官別にみると根の吸収量が際立って高く、Cd 添加濃度と相関 ($r^2=0.988^{**}$) したが、0.66ppm 区で頭打ち状態となった。さらに茎の吸収量もほぼ Cd 添加濃度の増加に伴い0.66ppm 区まで直線性 ($r^2=0.991^{**}$) を示した。また Ca 添加区の全吸収量は、0.15ppm 区とほぼ同様の値で、Cd 吸収を抑制する効果を顕著に示した。

ダイズ幼植物1個性当たりのCd 吸収量は、0.15ppm 区において根が15 μ g、茎2 μ g、0.66ppm 区では、それぞれ40 μ g、6 μ gであった。また Ca 処理区では根14 μ g、茎4 μ gで0.15ppm 区に近似していたが、葉において両者を比較すると、0.15ppm 区のおよそ5倍、生長部で約23倍と大幅に差があった。

次に、Cd 溶液の添加に伴う各器官別の濃度および濃縮率を生体重当たりで示したのが、表2である。根の濃度は前述のとおり、Cd 吸収量が直線的に増加した0.43ppm 区までの3区が順に、24ppm、40ppm、62ppmで、0.66ppm 区では約72 ppmと頭打ちとなった。そして Ca 添加区では12ppmと最低値を示した。以上を濃縮率に換算すると、0.15ppm 区で158倍、0.33ppm 区が120倍、0.43ppm 区が143倍であるのに対して、0.66ppm 区では110倍で明らかに他の3区よりも濃縮率が低下した。さらに Ca 添加区は21倍と極端に濃縮率が低かった。

茎については、Cd 添加 0.15ppm 区から0.66ppm 区間の濃度が約3~12ppmで、濃縮率をみても14~26倍で、根でみられたように、特に 0.66ppm 区の値が低下することとはなかった。ところが葉の濃度は0.43ppm 区までの3区が0.05ppmと根、茎と比べて桁違いに低いが、しかし0.66ppm 区では濃度が0.73ppmで、濃縮率は他の3区の2~6倍であった。さらに Ca 処理区も 0.66ppm 区について濃度が高く 0.21ppmであるが、しかし濃縮率は0.66ppm 区の半分以下であった。

表2 Cd 溶液添加に伴う各器官別濃度 (ppm) および濃縮率

Cd 添加 ppm	根		茎		葉		生長部	
	濃度	濃縮率	濃度	濃縮率	濃度	濃縮率	濃度	濃縮率
0.00	0.00	—	0.00	—	0.00	—	0.00	—
0.15	23.67	158	3.38	26	0.05	0.32	0.02	0.12
0.33	39.80	120	5.78	18	0.06	0.17	0.02	0.13
0.43	61.73	143	6.17	14	0.04	0.10	0.05	0.12
0.66	72.28	110	11.78	18	0.73	0.56	0.26	0.40
0.93+Ca	11.84	21.3	5.10	55	0.21	0.22	0.33	0.35

(生体重当り)

生長部については葉とほぼ同様の傾向で、0.66 ppm 区が他の3区に比較して濃縮率で3倍強であり、Ca 処理区も0.66 ppm 区と濃縮率はほぼ同じであった。

以上の結果から、Cd 添加濃度が高くなると地上部への移行・吸収が顕著になることが示された。また反対に低濃度添加区では、特に根および葉の濃縮率が高く、Cd についてレスポンスが高い事が示唆された。そして一区だけ設けたCa 添加区は、Cdの吸収を抑制する効果を顕著に示し、河崎・森次⁷⁾による、植物に対する有害イオンの吸収をCaが抑制するとの報告を裏付ける結果であった。

6) Cd 処理したダイズ幼植物中の P, B 及び金属元素の挙動

Cd 処理した溶液およびダイズ幼植物中の P, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mo, B について、器官別に示したのが図8および図9である。Cd 処理溶液中にはCa 添加区を除いて、Cd 以外の添加元素は中和時の Na イオンのみで、他の元素は添加されていない。しかしCd 処理後の溶液を分析した結果、元素によってはCd 溶液中への排出が生じた。

Cd 添加濃度が増加するにつれて元素の排出量が増加する顕著な例として Ca, Mo があり、それぞれ個体当りの最高値は0.18mg, 0.7 μ g であった。Mg, P もほぼ同様の傾向を示したが Mg の排出量はその中でもとりわけ大きく最高値で約0.3mg, また P は0.05mg であった。Zn については Cd 添加濃度に関係なく、排出量は全区にお

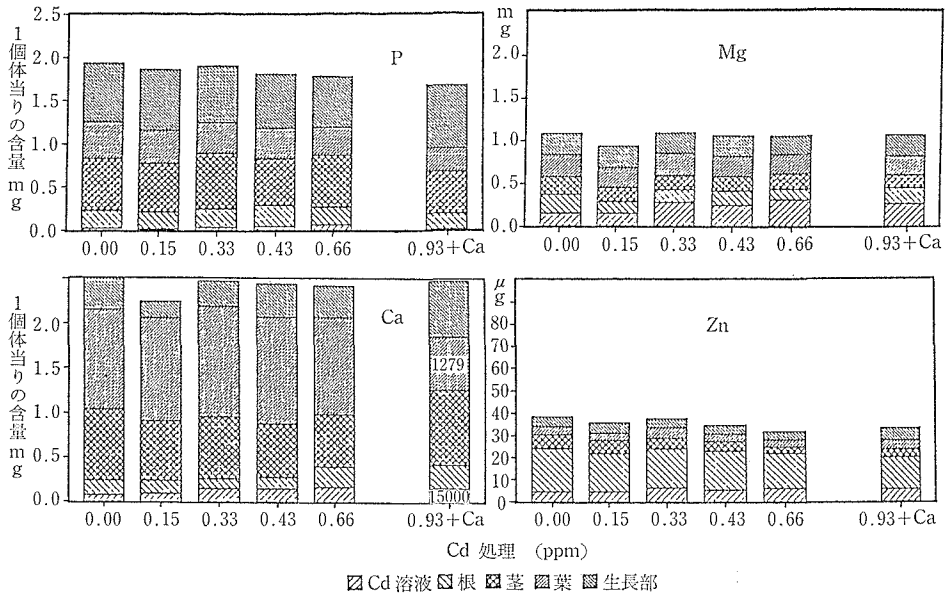


図8 Cd 処理した溶液およびダイズ幼植物中の P, Ca, Mg, Zn の挙動

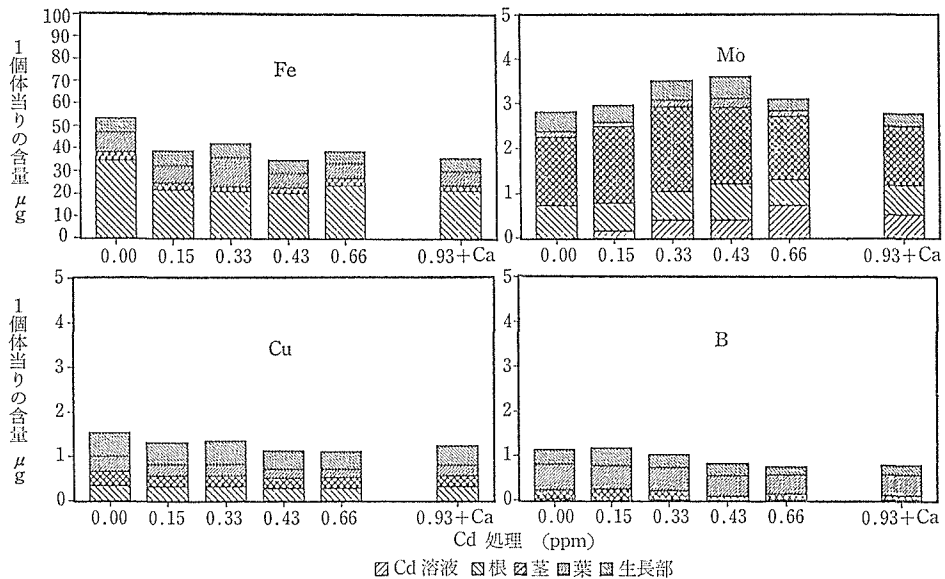


図9 Cd 処理した溶液およびダイズ幼植物中の Fe, Cu, Mo, B の挙動

いて 5μg 前後であった。一方、Ca 添加区を除くと Fe, Cu, B は体内から溶液中への排出はみられなかった。さらに Ca 添加区では P の排出が抑えられた以外特に他区と変わった挙動はみられなかった。

以上の結果を各元素について、Cd 添加濃度 0.00ppm 区と 0.66ppm 区の両区をとり上げて体内から溶液に排出される割合を百分比で見ると、前述のごとく Fe, Cu, B は溶液中への排出がないので両区とも挙動に変化がなかった。それに対して Mo は両区で特に差が大きく、0.00ppm 区では排出されないのが 0.66ppm 区では全 Mo 含量の約 23%ほどが排出された。さらに排出量の相対値の高い順を 0.00ppm 区で見ると Mg, Zn, Cu, P の順で、0.66ppm 区においてもやはり順序は同様でそれぞれ全体のおよそ 30%, 20%, 5%, 3% が溶液中に排出された。

以上本実験の結果は、今後汚泥等を還元した土壌において生育させたダイズ幼植物の Cd の分析値から得られる移行・吸収等の挙動を評価する上での基礎的知見となると思われる。さらに少しの汚染であれば健全に生育する耐性植物の栽培、あるいは子実等の食物となる可食部に重金属をとりこまない植物の利用等の必要性からも、今後さらに Cd 以外の有害元素についても植物の種間差、器官別分布、栽培方法等についての基礎的研究が重要な課題となる。

要 旨

ダイズ幼植物(品種:コガネダイズ, 23日間水耕栽培)に比較的低濃度(濃度区 0.00 ppm, 0.15ppm, 0.33ppm, 0.43ppm, 0.66ppm, 0.93ppm+Ca の6段階を pH5.5

に調整)の Cd 溶液を添加して、植物体内の各器官における移行・吸収について検討するとともに、Cd 吸収に伴う他の元素についてもその挙動をみた。得られた知見を要約すると以下のようである。

1) Cd 添加濃度の増加に伴うダイズ幼植物体内への Cd の移行、吸収量は、0.43ppm 区まで直線的に増加した。特に根の吸収量は他の器官に比較してきわめて高く、Cd 添加濃度と相関 ($r^2=0.988^{**}$) したが、0.66ppm 区で頭打ち状態となった。また茎の Cd 吸収量も根とほぼ同様の傾向であったが、最高濃度の0.66ppm 区まで直線性 ($r^2=0.991^{**}$) がみられた。

2) ダイズ幼植物の1個体当たり Cd 吸収量は、添加濃度の低い0.15ppm 区において根が15 μ g、茎で2 μ g、添加濃度 0.66ppm 区ではそれぞれ40 μ g、6 μ g であった。

3) Cd 吸収量が直線的に増加した0.43ppm 区までの3区を濃縮率に換算すると、根においては生体重で120~160倍、茎が14~26倍であるのに対して、0.66ppm 区では根が110倍、茎が18倍であった。これらの事から、最高濃度である 0.66ppm 区は根の濃縮率は明らかに低下するが、茎は他の3区に比較してあまり差がみられなかった。さらに葉の濃縮率は他区の約2~6倍、生長部になると3倍強であった。

以上の結果から、Cd 添加濃度が高くなると地上部への移行・吸収が顕著になることが示唆された。また添加濃度 0.15ppm区 の吸収量および濃縮率などからみて、ダイズ幼植物は特に根が Cd にたいしてレスポンスが高く、今後実際の土壌で生育させた植物分析値を評価するための基礎的知見となり得る。

4) Cd 溶液の添加に伴う他の元素の挙動をみた結果、Ca、Mg、Zn 等が植物体内から溶液中に排出され、Fe、Cu、B は溶液中への排出はほとんどみられなかった。

5) 2.5mM の Ca を添加した、Cd 濃度 0.93ppm 区においては Cd の吸収を抑制する効果が顕著であった。

引 用 文 献

- 1) 茅野充男・斎藤 寛：重金属と生物，100-102，博友社，1988.
- 2) 山本満寿夫・渡辺義人：土壌還元した家庭下水汚泥中の重金属の挙動，用水と排水 21(6)，26-33，1979.
- 3) 山本満寿夫・渡辺義人：家庭雑排水汚泥の化学的性質，日本土壌肥料学会講演要旨集，第33集 Part II，298，1987.
- 4) 山本満寿夫・渡辺義人：菅平高原土壌中の重金属元素（亜鉛・マンガン・銅）の形態別分布，Journal of the Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, No 99, 1-12, 1986.
- 5) 渡部久男・小山雄三：土壌中微量元素の抽出法，日本土壌肥料学雑誌，59(2)，226-236，1988.
- 6) 武長 宏：ダイズの光合成におよぼす汚染重金属の影響，農学集報，25(3.4)，272-278，1980.
- 7) 河崎利夫・森次益三：作物による1価カチオンの吸収・移行に対するカルシウムの影響，日本土壌肥料学雑誌，44，133-137，1973.

謝 辞

本研究を行なうにあたり終始指導を賜った、本学繊維学部加藤泰正教授および有益な助言を賜った本学繊維学部講師矢彦沢清允氏、ならびにグラフィック処理に御助力いただいた本学繊維学研究科宮原誠氏に感謝の意を表します。本稿の要旨は平成元年度日本土壤肥料学会関東支部大会（1989年、伊那市）において発表した。

Summary

Uptake and behavior of heavy metals in soybean plant. (1) Uptake of Cd.

Masuo YAMAMOTO

Laboratory of Applied Botany, Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University.

Experiments were carried out to determine if Cd was taken up by and distributed within soybean plant. Unnodulated 23-day-old soybean plants were supplied with solution of varying Cd concentration (0.00 to 0.66ppm) for 4 days under continuous low light intensity (ca. 1200 lux) and constant temperature (25°C).

As the concentration of Cd in the solution was increased, all plant parts showed increased concentration of Cd. In the stems, the response was essentially linear over the entire range of Cd concentrations employed ($r^2=0.991^{**}$), while in the roots a linear relationship was found up to 0.43ppm ($r^2=0.986^{**}$). At all Cd concentrations used, the roots contained by far the greatest part of the total plant Cd content, although the root's predominancy decreased to some extent with increasing dosage of Cd.

When expressed as concentration ratio which is the ratio of Cd concentration of each plant part to that of external solution, the ratios of 120-160, 14-26 were obtained for roots and stems, respectively, over a concentration range from 0.15 to 0.43ppm of added Cd.

Addition of Cd to external solution appeared to cause a release of Ca, Mg, Zn, and possibly Mo into the solution, but not of Fe, Cu, and B.