

第3章 植物の元素集積性に関する調査研究

Research on Element-accumulating Capacity of Plants

山上 睦, 箭内 真寿美, 久松 俊一

環境動態研究部

Mutsumi YAMAGAMI, Masumi YANAI, Shun'ichi HISAMATSU

Department of Radioecology

Abstract

Phytoremediation is a possible countermeasure against soil contamination with radionuclides. Identifying and establishing hyperaccumulators is the key to developing practical phytoremediation methods. This study aims to select or develop hyperaccumulators usable for radionuclides that could potentially be released in Aomori Prefecture due to the location of a nuclear fuel reprocessing facility there. For that purpose, we focused on the following two approaches: to search for hyperaccumulators for Cs, Sr and I from crops and wild plants, and to employ a genetic approach to develop transgenic plants using genes controlling Cs resistance in *Arabidopsis* mutants.

Several crops were selected as candidate accumulators of each element according to their ability to remove the element when the plants were cultivated in an experimental field by conventional practice. The selected candidate Cs accumulators were *Portulaca oleracea*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Helianthus annuus* and *Lactuca sativa* var. *angustana*. The candidate Sr and I accumulators were *Amaranthus hypochondriacus* and *Helianthus annuus*. Those candidates will be examined further for removal of the elements under different cultivation conditions in the experimental field. The best accumulator for each element will then be selected based on the removal results.

Eight wild plants were selected by analysis results with ICP-MS after screening of 282 species by X-ray fluorescence analysis. Those plants will be cultivated in the experimental field and their removal of the target elements from soil will be checked.

For a genetic approach, thirteen lines of Cs-resistant *Arabidopsis* mutants have already been established. The causative genes of two lines of the mutants were identified. The causative genes of the CsR33 and CsR80 lines were a chloroplast signal recognition particle subunit (*cpSRP54*) gene and glutamyl-tRNA reductase (*HEMA1*) gene, respectively. Since the causative genes are related to chlorophyll synthesis and most of the mutants showed yellowish leaves, Cs-resistance was considered to be linked to chlorophyll metabolism. *Arabidopsis* knockout mutants of chlorophyll synthesizing enzyme genes were examined for Cs resistance, and six knock-out lines were found to have it.

1. 目的

本調査では、青森県の環境条件に適した植物による環境浄化手法開発に資することを目的として、Cs、Sr 及び微量元素集積植物の探索を行うとともに、得られた集積植物の集積特性を明らかにする。このため、青森県内で栽培可能な作物・花卉及び野生植物

の Cs、Sr 及び I の移行率を調査し、環境浄化用元素集積植物を選定する。更に、平成 17 年度までに得られているシロイヌナズナの Cs 耐性変異株を使って、耐性及び元素挙動に関与する遺伝子を単離し、機能解析を行うとともに、この遺伝子を組み込んだ形質転換（遺伝子導入）植物を作製する。このため、平

成 20 年度においては以下の項目についての調査を行った。

1. Cs、Sr 及び微量元素集積植物の探索・選定及び元素存在形態の調査
2. セシウム耐性関連遺伝子の単離・機能解析及び形質転換(遺伝子導入)植物の作製

2. 方法

2.1. Cs、Sr 及び微量元素集積植物の探索及び集積部位・輸送形態の調査

Cs、Sr 及び I を土壌から効率良く除去できる集積植物を野生植物から探索するため、六ヶ所村周辺の野生植物 (68 科 282 種) を採取し、簡易 X 線分析法にて濃度の高いものを一次選抜し、上位 15 種については ICP-MS でも分析した。また、栽培植物については、過去 2 年間の結果を元に、環境浄化用候補植物の選定を行った。得られた環境浄化用候補植物のサイトゾル中の Cs、Sr 及び I の存在形態を明らかにするため、元素が有機物と結びついた有機態をサイズ排除クロマトグラフィーにより分子量別に分析する手法を試験した。

2.2. Cs 耐性関連遺伝子の同定・機能解析及び形質転換(遺伝子導入)植物の作製

Cs 耐性関連遺伝子位置の絞込みが効率よく進んだ変異株の 2 系統に対してダイレクト PCR シークエンス法により遺伝子の変異箇所を調査した。逆遺伝学的手法による Cs 耐性関連遺伝子の探索方法として、クロロフィル合成系の代表的な遺伝子をノックアウトした系統を使って Cs 耐性を調べた。また、原因遺伝子が座乗すると想定される部位付近に存在する輸送体遺伝子に関してもノックアウトした系統を使って Cs 耐性を調べた。更に、Cs 耐性または輸送関連遺伝子導入に向けての予備試験を行った。

3. 成果の概要

3.1. Cs、Sr 及び微量元素集積植物の探索及び集積部位・輸送形態の調査

1) 野生植物の一次選抜の結果、Cs 濃度は、タデ科のオオイタドリとミゾソバ、イラクサ科のアカソが高かった。Sr 濃度は、センリョウ科のヒトリシズカ、イラクサ科のアカソ、ユキノシタ科のヤグルマソウ

が高かった。I 濃度は、イグサ科のマレイ、アカザ科のオカヒジキ、キク科のタカサブロウが高かった。今後、これらの植物を圃場で栽培し、各元素の収奪率を調査して、環境浄化用植物の候補とし、次に最適な栽培法を検討して、その結果を基に環境浄化用植物を選定する。

2) 植物による畑地土壌からの収奪率を基に、Cs を土壌から効率良く除去できる栽培植物として、スベリヒユ、アマランサス、ヒマワリ、カキチシャを環境浄化用植物の候補とし(Fig. 1)、Sr についてはヒマワリ、アマランサスを選択した(Fig. 2)。同様に、I を土壌から効率良く除去できる栽培植物として、ヒマワリ、アマランサスを候補とした (Fig. 3)。今後、これらの植物の最適な栽培法を検討して、環境浄化用植物を選定する。

3) サイトゾル中の元素が有機物と結びついた有機態をサイズ排除クロマトグラフィーにより分子量別に分析する手法を確立した。

3.2. Cs 耐性関連遺伝子の同定・機能解析及び形質転換(遺伝子導入)植物の作製

1) Cs 耐性株 CsR33 の原因遺伝子は、葉緑体の光応答または光合成調節機構への関与が示唆されている chloroplast signal recognition particle subunit (cpSRP54) であった。

2) CsR80 の原因遺伝子は、クロロフィル代謝系の上流に位置し、クロロフィル合成を調節している glutamyl-tRNA reductase (HEMA1) であった。

3) 既知の遺伝子破壊系統を使って Cs 耐性との関連を調べる逆遺伝学的方法により、ABC transporter、Prolin transporter 2、CaATPase 2 (ACA 2) 輸送体遺伝子及びクロロフィル合成系の protoporphyrinogen oxidase (PPOX)、chlorophyllide a oxygenase (CAO)、magnesium chelatase、light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein (CAB-4)、8-divinyl protochlorophyllide a 8-vinyl reductase (DVR)、chlorophyll synthetase 遺伝子が Cs 耐性に関与することが明らかになった。

4) 遺伝子導入に向けての予備試験を行い、アグロバクテリアによる形質転換法が最適であり、導入組織はシロイヌナズナでは胚軸を、タバコではリーフディスクを用いることとした。

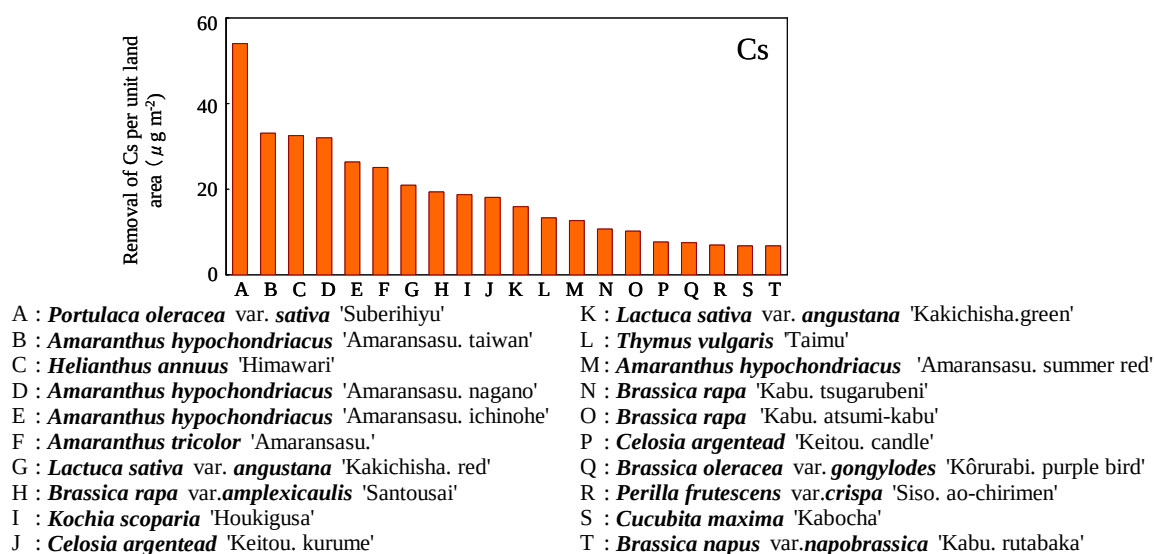


Fig. 1 Removal of Cs per unit land area in an experimental field by 20 crops.

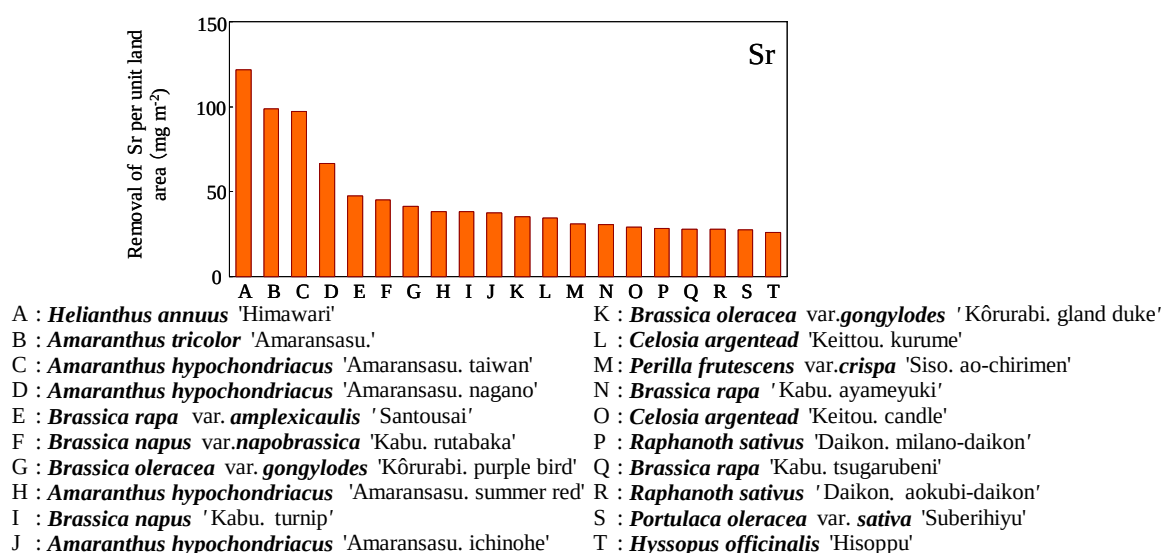


Fig. 2 Removal of Sr per unit land area in an experimental field by 20 crops.

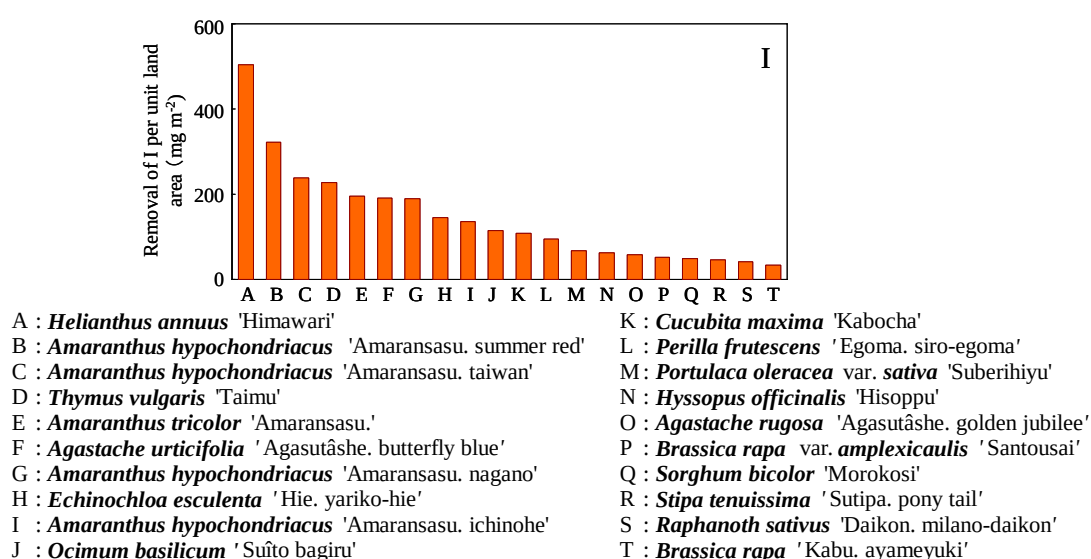


Fig. 3 Removal of I per unit land area in an experimental field by 20 crops.