

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 accumulators are the key to developing practical phytoremediation methods. This study aims to select or develop accumulators usable for radionuclides that could potentially be released in Aomori Prefecture due to location of the nuclear fuel reprocessing facility there. For that purpose, we focused on the following two approaches: to search for accumulators 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.

The candidate accumulators of crops, *Amaranthus hypochondriacus*, *Helianthus annuus*, *Lactuca sativa* and *Portulaca oleracea* were selected from crops in FY 2008 based on their removal capacity of the target elements from soil. They were cultivated in an experimental field to conduct a reproducibility experiment in FY 2009 and *Amaranthus retroflexus* and *Persicaria lapathifolia* were selected as the candidate Cs, Sr and I accumulators of wild plants. In FY 2010, the candidate accumulators of wild plants were cultivated again in an experimental field for confirming reproducibility of the results, and their suitable planting density was determined in the field.

The finally selected Cs accumulators were *Amaranthus hypochondriacus*, *Amaranthus retroflexus*, *Helianthus annuus* and *Lactuca sativa*. *Amaranthus hypochondriacus*, *Amaranthus retroflexus*, *Helianthus annuus* and *Persicaria lapathifolia* were also selected as the accumulator of Sr and I. The suitable plant density of *Amaranthus retroflexus* was found as 16 plants/m² for Cs removal from soil, while that of *Persicaria lapathifolia* was 9 plants/m² and 4 plants/m² for removal of Cs and Sr, respectively.

We tried to overexpress *AtCNGC17*, which we previously identified as a Cs transporter gene, in *Arabidopsis* Cs-resistant mutants (CsR33 and CsR80) to try to produce Cs accumulator. The transgenic plants of CsR33 and CsR80 were produced by the gene transfection method of *AtCNGC17* in FY 2009, and their Cs uptake capacities were examined in 2010. The *Arabidopsis* transgenic plants overexpressing *AtCNGC17* did not accumulate more Cs than the control. The transgenic plants of *Nicotiana tabacum* (wild tobacco) overexpressing *AtCNGC17* were also produced, and their Cs accumulation was measured. Four out of five lines of the transgenic explant from tissue culture of leaf discs overexpressing *AtCNGC17* showed statistically higher ¹³⁴Cs uptake than the control.

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I集積植物の探索・選定を行うとともに、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の土壤植物間移行を調査し、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。平成22年度においては以下の項目についての調査を行った。

1. セシウム、ストロンチウム等微量元素集積植物の探索・選定
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 セシウム、ストロンチウム等微量元素集積植物の探索・選定

平成18年から22年にわたり、環境科学技術研究所内の黒ボク土壌からなる圃場に栽培植物と野生植物を栽培し、土壌中の既存安定Cs、Sr及びIの植物体への吸収量を測定し、栽植密度を考慮して単位面積あたりの元素収奪量を求めた。

77種の栽培植物から環境浄化用候補栽培植物として選定された、ヒユ科アマランサス、キク科ヒマワリとカキチシャ、スベリヒユ科タチスベリヒユについて、Cs、Sr及びI収奪性の再現実験を平成21年度に行い、平成22年度に分析を行った。その結果をもとに環境浄化用栽培植物を選定した。50種の栽培植物から環境浄化用候補野生植物として選定された、ヒユ科アオゲイトウ、タデ科オオイヌタデについて、Cs、Sr及びI収奪性の再現実験を平成22年度に行い、環境浄化用野生植物を選定した。また、平成21年度に選定した野生植物の環境浄化用候補植物について、異なる栽植密度における単位面積あたりの元素収奪量を求め、最適な栽培管理法の確立を目指した。

2.2 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

平成20年度に明らかになったシロイヌナズナCs耐性原因遺伝子がコードするタンパク質（cpSRP54）の発現と光合成関連タンパク生成との関連からCs

耐性株の機能解析を行った。また、野生株及びCs耐性株（CsR33,CsR80）にCs輸送関連遺伝子（*AtCNGC17*）を導入した形質転換シロイヌナズナ及びタバコを作製し、Cs吸収特性を調査した。

3. 成果の概要

3.1 セシウム、ストロンチウム等微量元素集積植物の探索・選定

Cs収奪性の再現性が確認された栽培植物は、ヒユ科のアマランサス‘一戸在来’（ $0.13\pm 0.01 \text{ mg m}^{-2}$ ）、キク科のカキチシャ（ $0.11\pm 0.02 \text{ mg m}^{-2}$ ）、ヒマワリ（ $0.10\pm 0.02 \text{ mg m}^{-2}$ ）であり、Csの環境浄化用栽培植物として選定した。同様にSrの環境浄化用栽培植物としてヒユ科のアマランサス‘一戸在来’（ $89.8\pm 15.2 \text{ mg m}^{-2}$ ）とキク科のヒマワリ（ $49.5\pm 8.9 \text{ mg m}^{-2}$ ）を選定した。更に、Iについては、ヒユ科のアマランサス‘一戸在来’（ $0.49\pm 0.09 \text{ mg m}^{-2}$ ）とキク科のヒマワリ（ $0.22\pm 0.08 \text{ mg m}^{-2}$ ）を環境浄化用栽培植物として選定した。

Cs収奪量の再現性が確認された野生植物は、ヒユ科のアオゲイトウ（ $0.38\pm 0.04 \text{ mg m}^{-2}$ ）、であり、Csの環境浄化用野生植物として選定した。オオイヌタデに関しては平成21年度と比べてCs収奪量が少なかったが、前年の半分以下の雨量の影響で生育が悪かったためと考えられる。水田跡地などの湿潤な土壌環境では収奪量がかなり高くなる可能性が示唆されたため、環境浄化用野生植物として残した。SrとIの収奪量の再現性が確認された野生植物はタデ科のオオイヌタデであり、環境浄化用野生植物として選定した。その単位面積当たりの収奪量はSrが $192\pm 16 \text{ mg m}^{-2}$ 、Iが $0.61\pm 0.06 \text{ mg m}^{-2}$ であった。

環境浄化用野生植物の栽培管理法として、土壌からのCs除去効率が更に高くなる栽植密度は、アオゲイトウでは、16株/m²であった。オオイヌタデでは、Cs及びIの土壌からの除去効率が更に高くなる栽植密度は9株/m²で、Srの除去効率が更に高くなる栽植密度は4株/m²である事が明らかになった。

3.2 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

cpSRP54タンパク質の生成は野生株及びCsR33変

異株ともに観察されたが、CsR33が野生株と比較してやや少なかった。光合成関連タンパク質であるcpSRP43、Lhcb2、Lhca2の生成は野生株及びCsR33変異株の間で差異はなかったが、反応中心サブユニットであるD1タンパク質はCsR33変異株で生成が抑制されていた。

Csストレス条件下の光合成関連タンパク質はLhcb2、Lhca2、D1いずれにおいても、生成が抑制されており、特に、Lhca2の生成が抑制された。野生株にCs輸送関連遺伝子(*AtCNGC17*)を過剰発現させた場合、Cs無添加処理においては、植物体中Cs濃度が低下した。0.3 mM Cs添加処理では野生株と遺伝子導入株での植物中Cs濃度の差異は見られなかった。また、Cs輸送関連遺伝子(*AtCNGC17*)の発現を抑制させた場合、Cs無添加処理においては、Cs濃度が4系統中2系統でやや高くなった。0.3 mM Cs添加処理では野生株と遺伝子導入株での差異は見られなかった。

CsR33及びCsR80に*AtCNGC17*を過剰発現させた遺伝子導入株を作製し、 ^{134}Cs 吸収特性を調査した。培地に安定Csを添加しない場合、遺伝子を導入して

ないCsR33及びCsR80(コントロールCsR33及びCsR80)よりも ^{134}Cs の吸収はそれぞれ抑制された。また、CsR33及びCsR80の*AtCNGC17*の発現を抑制した場合は、コントロールCsR33及びCsR80よりも ^{134}Cs 吸収がそれぞれやや促進された。培地中にCsを0.1 mM添加した場合は、いずれの遺伝子導入株においても ^{134}Cs 吸収はコントロールCsR33及びCsR80とそれぞれ差異がなかった。以上より、Cs吸収能が著しく増加した形質転換シロイヌナズナを*AtCNGC17*の過剰発現又は抑制によって得ることはできなかった。

シロイヌナズナの*AtCNGC17*を導入した形質転換タバコを組織培養によるアグロバクテリウム法で作製し、発根後、寒天中で生育した植物体に ^{134}Cs を添加し、Cs吸収を調査した。その結果、*AtCNGC*輸送体遺伝子を過剰発現させた5系統の形質転換体のうち4系統で、 ^{134}Cs 吸収が有意に促進された(Fig. 1)。

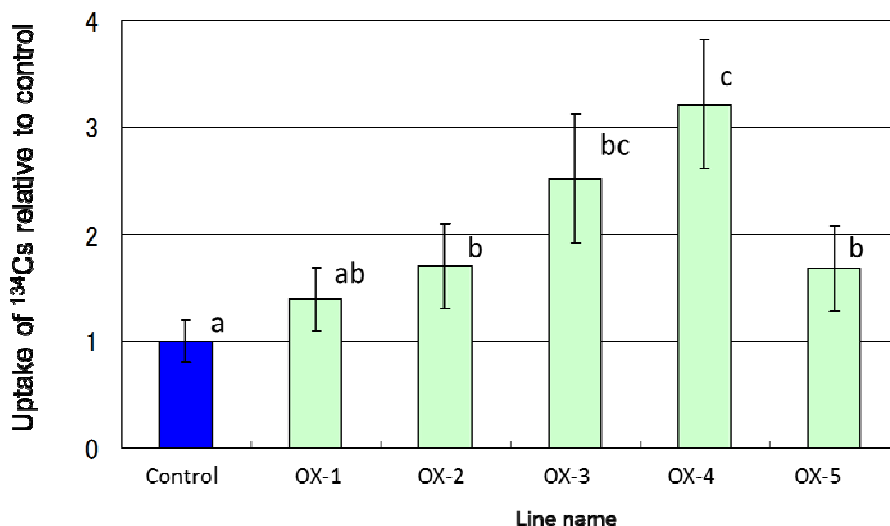


Fig. 1. Relative ^{134}Cs uptake in *AtCNGC17* overexpressing tobacco plants. Error bars show \pm SD (n=4). Means denoted by the same letter did not significantly differ at $p < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.