

シダ植物“ヘビノネゴザ”の phytoremediation 効果と銅の分析の研究

村田 勝夫*, 白石 奈那**

(キーワード: ヘビノネゴザ, phytoremediation 効果, 銅の分析)

1 緒言

銅は渡良瀬川の足尾銅山の公害問題から見ても深刻な害を及ぼすことは知られている。けれど銅は生体が正常な機能を営むためには必要であり欠かすことのできない金属でもある。人体に存在する量は体重60kg 当たり100~150mgと比較的少ないが、不足すると深刻な欠乏症が現れる。人体に欠かすことが出来ない必須金属の1つである¹⁾。

植物も同じであり、正常に生育するためには、人間が健康を守るのと同じく細胞の代謝系に銅以外にも亜鉛、鉄、マンガンなどを必要とする。これらの重金属は植物の生命維持するために必須で、多すぎても少なすぎても、植物の生育に著しい影響を及ぼす。しかし植物の中には普通の植物では枯死してしまうほど重金属濃度が高い土壌でも生育できるものがある。一般に種や属に特有で組織中の特定の部位に異常に高濃度の重金属を蓄積するものを「蓄積植物」や「集積植物」という²⁾。これらの植物を利用して汚染をされている土壌、河川などにファイトレメディエーションと呼ばれている環境中から汚染物質を除去すること、またはそれらを無害にする浄化技術が研究されている。

ヘビノネゴザはオシダ科のシダ植物で日本各地、シベリア、朝鮮、中国などにも分布しており、特に銅鉱山など鉱山地域に群生している。金属鉱床を探す指標植物として利用されていた³⁾。徳島県では神山町阿川地区を流れる広石谷川上流に旧広石鉱山がある。この旧鉱山にヘビノネゴザが群生している。

2 実験

2・1 採取

土壌とヘビノネゴザの採取地点は旧広石銅山にあるボタ山の上部、中部、下部より採取した。ボタ山のすぐ横を流れる広石谷川があり、ボタ山からの浸出水を貯水する甕がある。甕の水は広石谷川に流れ込んでいるので、甕の水、甕より上流、甕より下流から採水した。また甕の周辺からもヘビノネゴザを採取した。

2・2 実験方法

前処理として土壌(抽出液)は林の方法⁴⁾を参考にし、サンプル土壌を50℃で半日乾燥させた後、乾燥土壌5g ビーカーに測りとり、1N 塩酸を加える。これを超音波で2時間抽出させた。この後、メンブランフィルター(0.2 μ m)でろ過し、メスフラスコで100mlに調整したものを抽出溶液とした。シダ植物ヘビノネゴザは酒井等の方法³⁾を参考にし、500℃で6時間以上加熱乾燥させ粉碎し、その後10~20 μ g に対し混合酸(硝酸:過塩素酸=3:1)を2ml 加え、これに超音波をかけ分解させた。この試料を100mlに調整し試料溶液とした。河川水は可視できるような浮遊物があるときには、ろ過してから分析を行った。

分析方法は試料成分中のCuを対象とし、抽出溶液、試料溶液、河川水に対して、AA-800型原子吸光分析装置を用いて測定した。

*鳴門教育大学自然系理科講座

**鳴門教育大学学校教育研究科

3 結果・考察

広石鉱山は徳島県では神山町阿川地区を流れる広石谷川上流に旧広石鉱山があり、そのボタ山が広石谷川沿いに面している。広石谷川は鮎喰川の支流にあたり全長4 km、流域面積14.4km²である。広石鉱山は三波川変成地に面している。

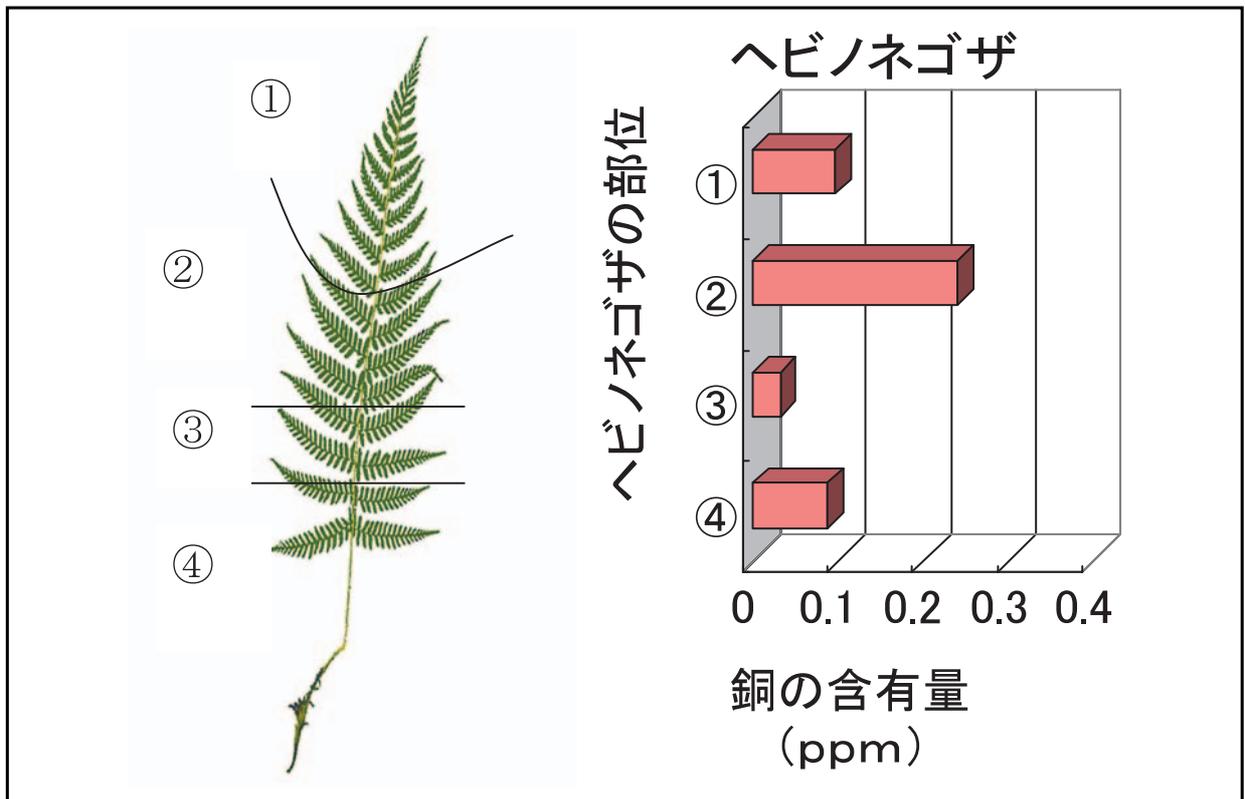
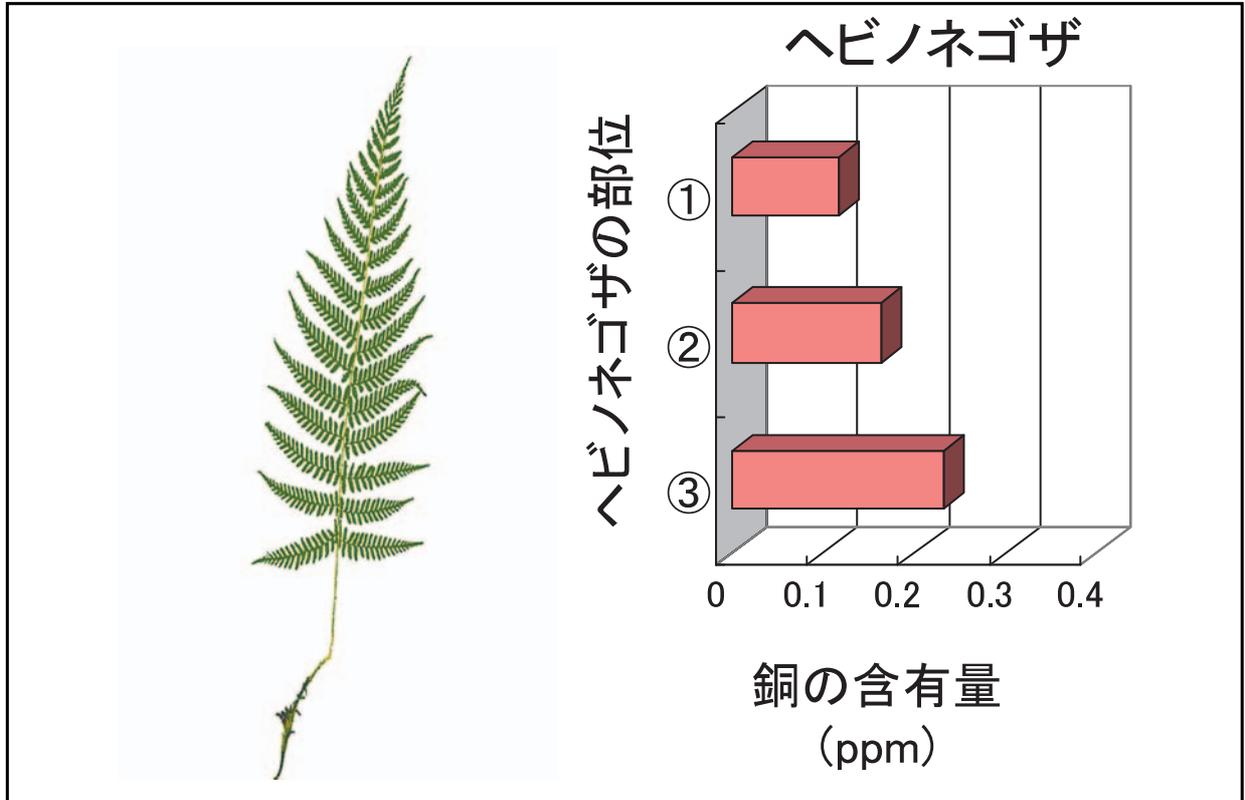


図1・図2 ヘビノネゴザ試料の分析部位とその値

帯の鉱床に属し、明治45年には35万貫の採鉱量をもつ鉱山であったが昭和16年に閉鎖された。

ヘビノネゴザは山師によって「金山草（かなやまそう）」とよばれていた。学名を *Athyrium yokoscense* (Fr. et Sav.) Christ という。

ヘビノネゴザの分析は、試料を約3 cmから5 cmの長さで切り、上部から①, ②, ③と順に番号を付け、測定を行った。図1の①は、試料の①の部分の銅の含有量を示している。縦軸に試料の部位の位置を、横軸には銅の含有量 (ppm) を示している。図1を見ると③, ②, ①の下から順に多く銅が含まれていた。植物は生長しているために栄養は土から根が吸収して葉の方に上がっていく。このことよりも水分や栄養分などと一緒に銅も葉の方に上がっていくものと考えられる。このため下方での銅の濃度が高いと考えられる。

同じように、測定を続けていると図2より羽片の付いている部分①, ②に多くの銅が含まれていた。銅は供給源から近いところから蓄積されヘビノネゴザの上部の方へ順に上がっていく、つまり根からの遠さの順によって

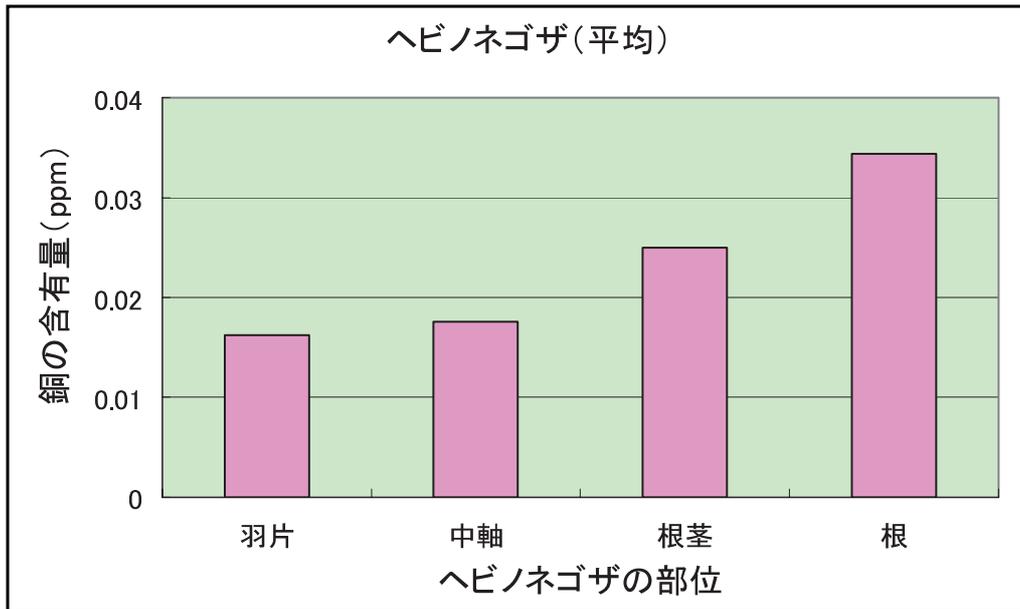


図3 3試料の部位別銅含有量の平均値

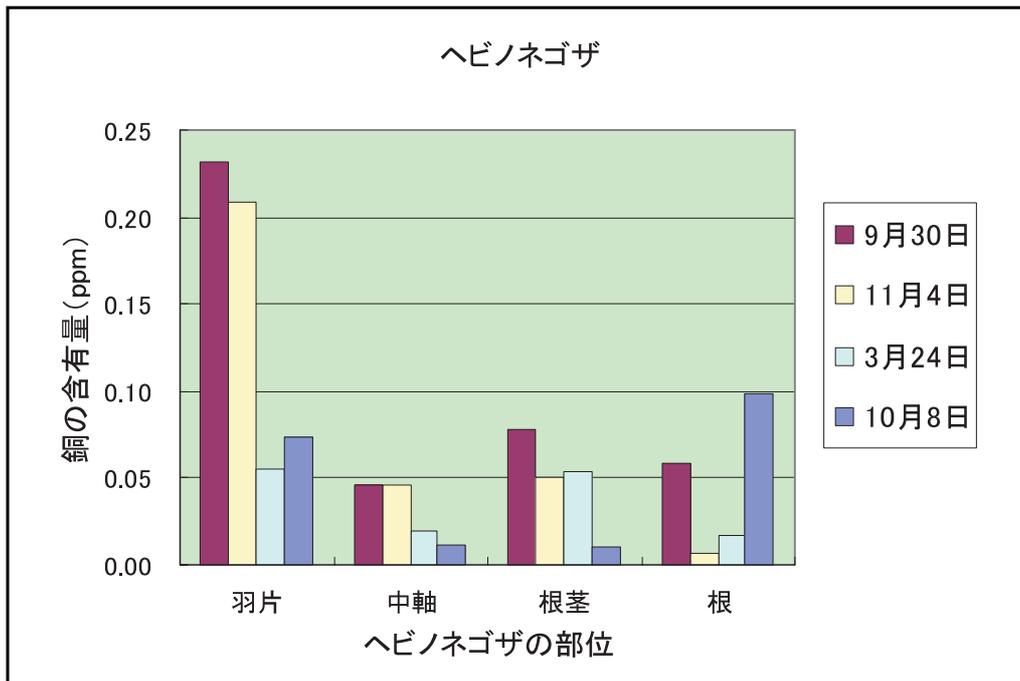


図4 試料別の各部位での銅含有量

銅の量が決まるのではなくそれぞれの部位によって蓄積量が違うのではないかと考え、これよりヘビノネゴザの羽片、中軸、根茎、根の部位に分けて測定を行った。

軸の部分が中軸であり、葉の部分である羽片と羽軸の部分は羽片として測定をした。根茎は鱗片が付いている部分である。ボタ山からの浸出水が流れ込む貯水甕の周辺で生育していたヘビノネゴザ（2002年9月30日，2003年3月24日，10月8日，11月16日採取）を一週間以上乾燥させた後、部位ごとに別けて灰化させた。結果の平均した銅の含有量を図3に示した。平均したときの銅の含有量（ppm）は羽片<中軸<根茎<根の順に多くなっていった。この結果より羽片は平均して一番銅の含有量が少なかった。

また同じように分析を続けていると羽片<中軸<根茎<根の順番とは異なる場合がみられた。図4（2002年9月30日，11月4日，2003年3月24日，10月8日採取）で分析したヘビノネゴザは羽片の裏に孢子嚢や孢子を持っているものである。そこでこの孢子嚢や孢子が他の部位と比べて銅をどれくらい蓄積するのか分析を行った。羽片より孢子を取り分ける方法として酒井等の方法³⁾を参考にし、ヘビノネゴザを一週間以上乾燥させてから、ヘビノネゴザを指ではたいて葉から落とし、落ちたもの孢子嚢、孢子をすべて孢子として分析を行った。孢子は平均すると根茎に続いて銅の含有量が多くみられた。

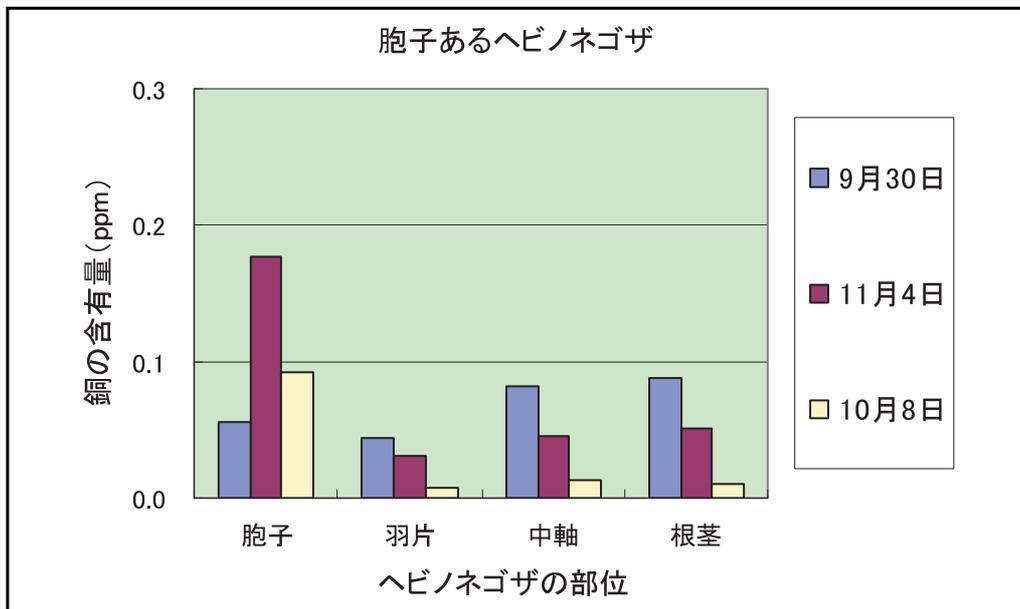


図5 孢子のある試料の銅の分析値

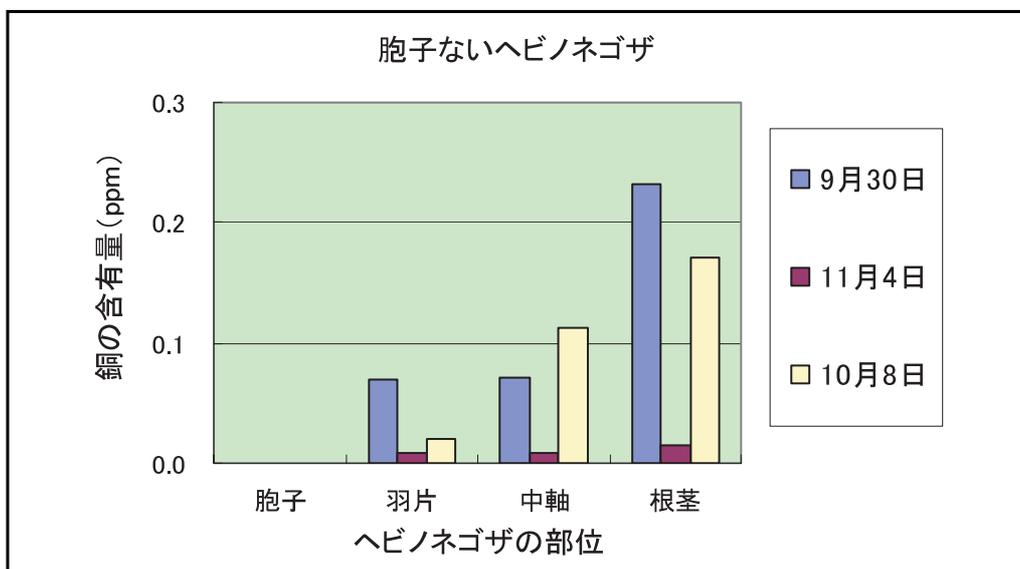


図6 孢子のない試料の分析値

また胞子があるヘビノネゴザと胞子がまだないヘビノネゴザを比較した(図5, 図6)。図5の胞子がある方は羽片, 中軸, 根茎は同じぐらいの銅を含有していたが胞子は他の部位に比べて約4倍以上あるものもあった。胞子がない方には根茎に多く含まれていた。このことから図5の9月採取したものはまだ胞子が出来はじめであったのではないかと考えられる。植物の胞子や種子は発芽に備えて栄養が必要となり, その植物の多くの栄養が集められる。ヘビノネゴザも同様であり, 銅が胞子に集まるものと考えられる。

ヘビノネゴザを調べるにあたり, ヘビノネゴザが生長していた周辺についても銅の含有量について調査した。

図7は広石谷川中(2002年11月4日, 2003年3月24日, 10月8日, 11月16日採取)の銅の濃度の平均を示している。ボタ山からの浸出水が流れ込む貯水甕の銅の濃度は広石谷川の銅の濃度よりもかなり高い濃度であるため分けて図8(2002年9月30日, 11月4日, 2003年3月24日, 10月8日, 11月16日)に記した。広石谷川は魚が生息している上流では平均およそ0.09ppmの銅が検出された。ボタ山から抽出された水が貯まる貯水甕より少し上流はおよそ0.3ppm, 甕より少し下流ではおよそ0.6ppmの銅が含まれていた。貯水甕の中の水にはおよそ19.0ppmもの銅の濃度が確認された。

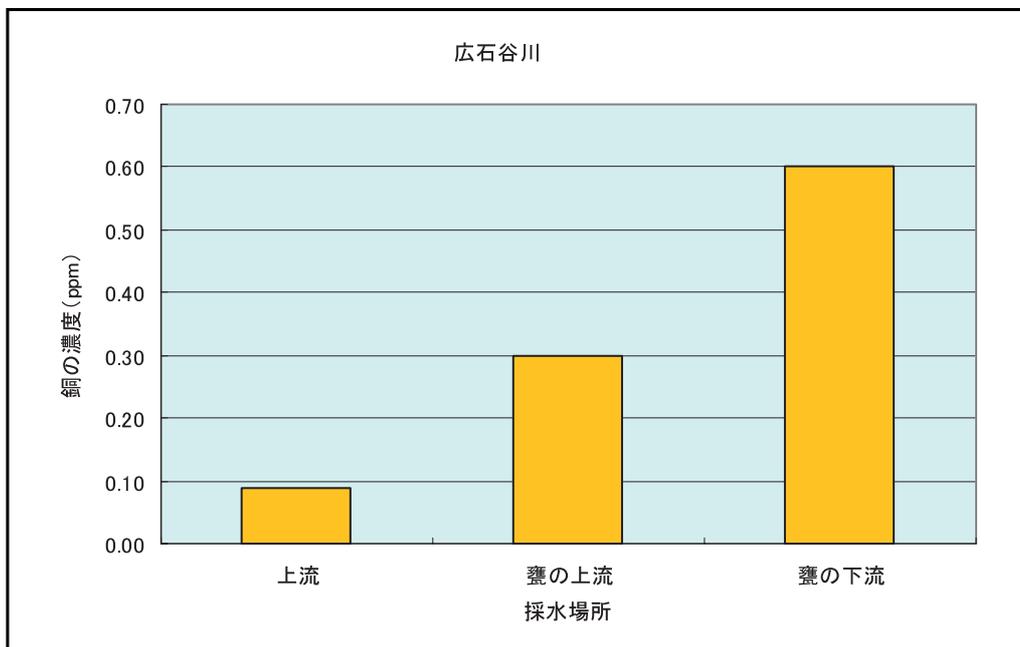


図7 広石谷川の場所による銅濃度の違い

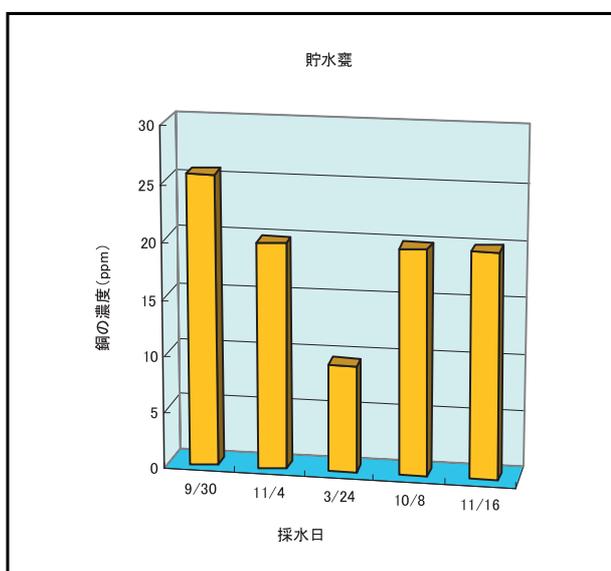


図8 貯水甕の中の銅濃度の変化

上流，甕の上流，甕の下流の順に濃度が高くなっているのは，広石谷川はボタ山からの浸出液の影響が大きいと考えられる。まず，上流は魚が生息していることから銅の濃度が低いことは予想することが出来る。甕はボタ山からの浸出水が流れ込む貯水甕であり，この浸出水には高い濃度の銅が確認されたことより，甕の下流でも銅の濃度が高くなる。甕の上流は甕より3，4メートル上流で採水したものであるが，上流より3倍の濃度が確認された。これは広石谷川で一部がコンクリートで整備されていて，整備されている川の壁面にあたるボタ山の一部もコンクリートのブロック部分があり，そこには水抜き用に穴があり，ここからも少量のボタ山の浸出水が出ているためと考えられる。

旧広石鉱山のボタ山の土壌（2002年9月30日，11月4日，2003年3月24日，10月8日，11月16日採取）についても銅の含有量（ppm）を調査した。図9は縦軸に採取した場所，横軸に銅の含有量（ppm）に記した。ボタ山土壌から（上部，中部，下部）平均すると13.4ppmの銅が抽出された。採取した場所を比較すると平均はボタ山の上部が一番少なく，中部と下部はほぼ同じ値となった。土壌は雨などにより下の方へと銅も流れ出して，下

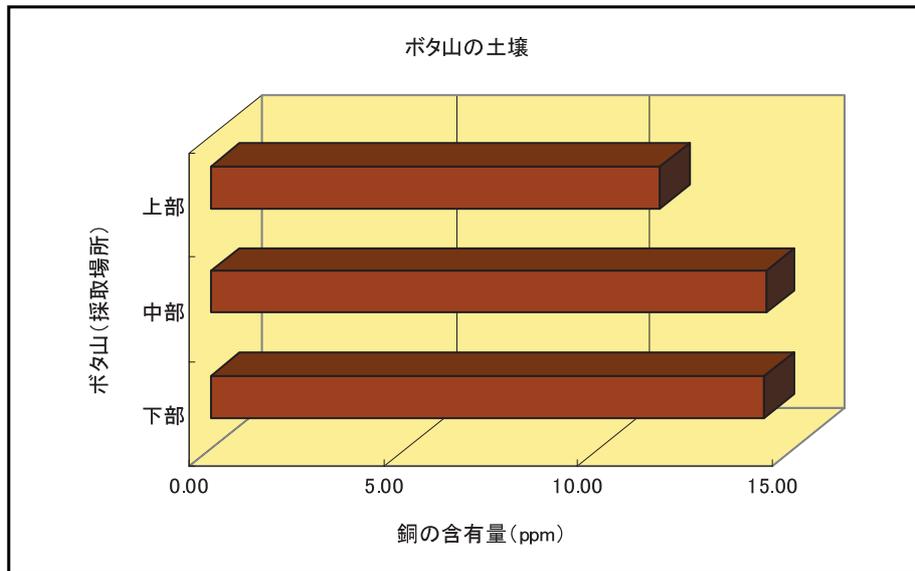


図9 ボタ山の土壌の銅含有量

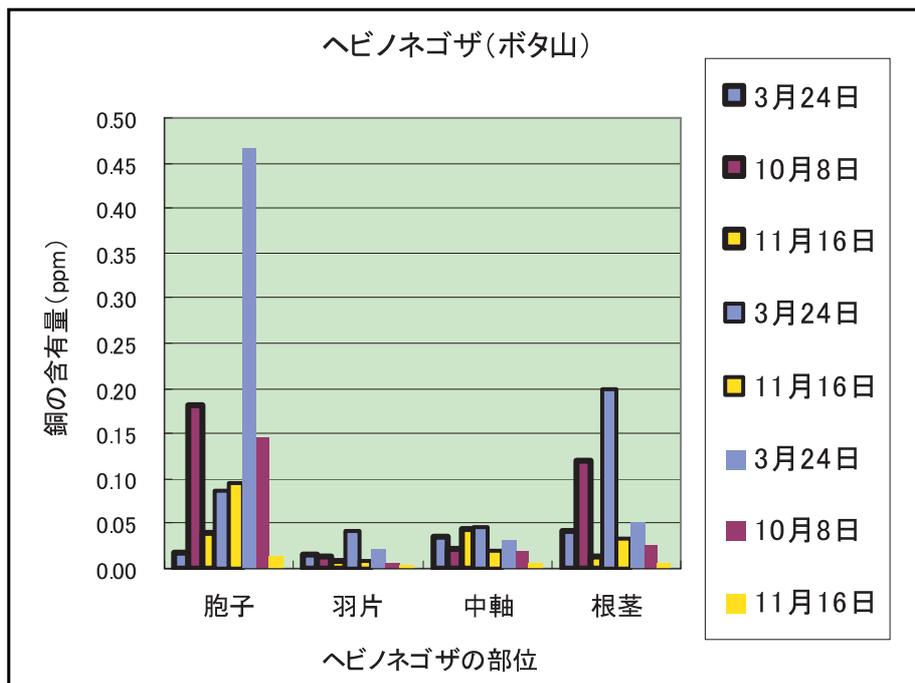


図10 ボタ山に生育していた試料の銅含有量

部が一番高いと考えられるが、採取日によっては上部の濃度が高い場合も見られた。

次にボタ山に生育しているヘビノネゴザ(2003年3月24日, 10月8日, 11月16日採取)について分析を行った。図10横軸にはヘビノネゴザの部位, 縦軸にはヘビノネゴザの銅の含有量 (ppm) を表している。生育している場所はボタ山の上部, 中部, 下部であり, ボタ山上部を太い黒の枠の棒グラフ, 中部を黒色の枠の棒グラフ, 下部を枠のない棒グラフで表した。

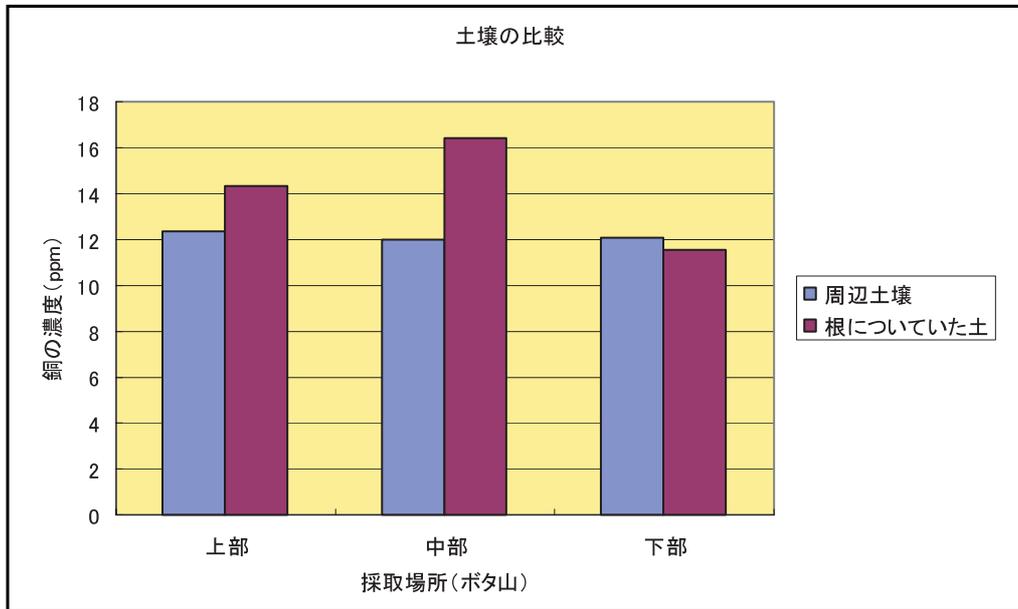


図11 試料の周辺土壌ならびに根についていた土壌中の銅の含有量

図11ではヘビノネゴザの根についている土壌(2003年10月8日, 11月16日採取)と, このヘビノネゴザの生育していた場所より少し離れた場所で採取した土壌について比較した。ヘビノネゴザの根についていた土壌を根についた土, ヘビノネゴザ生育していた場所より少し離れた場所の土壌を周辺土壌として表した。ヘビノネゴザの根についていた土壌の上部, 中部では銅の濃度はおよそ2 ppm から4 ppm 高くなっていた。このことからヘビノネゴザは汚染された土壌の中でも濃度のより高いところで生育しやすいのかもしれないと考えられる。けれど分析したヘビノネゴザはボタ山の生育場所の違いによる変化は見られなかった。胞子や根茎には採取した時期による違いが見られた。

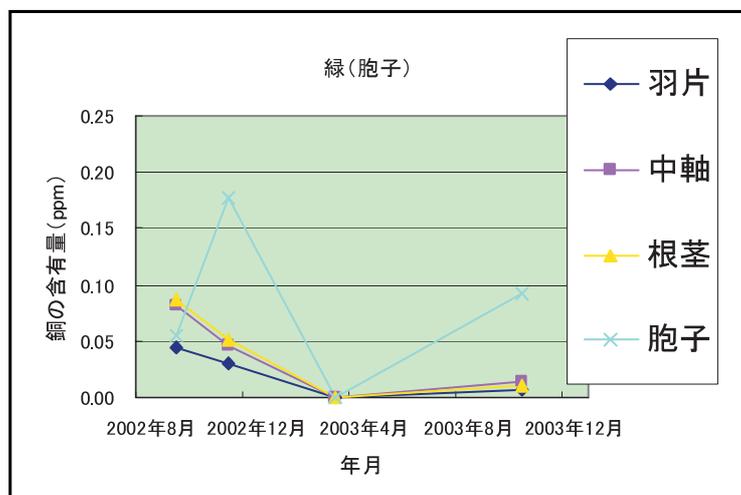


図12 緑葉で胞子のある試料の銅含有量

採取した時期と生育状態による銅の蓄積部分に変化があるのか比較を行った。この分析にボタ山からの浸出水

を貯水する甕の周辺に生育しているヘビノネゴザ（2002年9月30日，11月4日，2003年3月24日，10月8日，11月16日採取）を用いて比較した。

生育状態の違いとして緑色の羽片のヘビノネゴザ，緑色の羽片の裏に胞子がついているヘビノネゴザで分析を行った。図12，図13緑色の羽片のヘビノネゴザを緑，緑色の羽片の裏に胞子がついているヘビノネゴザを緑（胞子）とした。

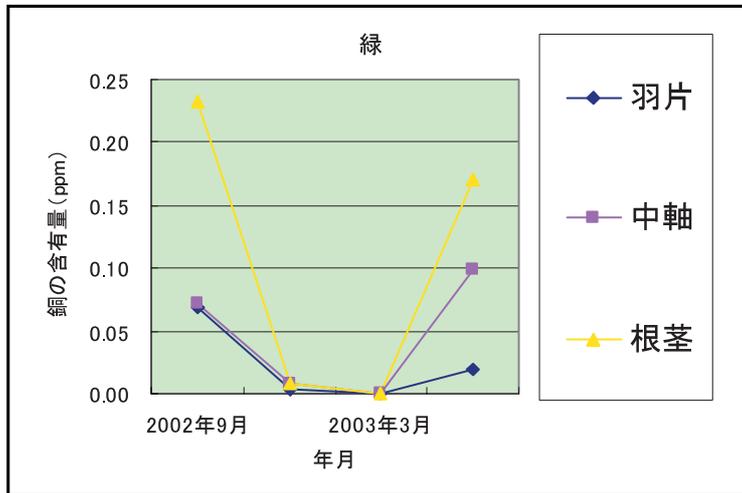


図13 緑葉で胞子のない試料の銅含有量

緑色の羽片の裏に胞子がついているヘビノネゴザはどの時期でも胞子に銅の蓄積が多い。そのため胞子以外の羽片や中軸，根茎に蓄積している銅の濃度は低いがこのように胞子の生長に関係があると考えられる。緑色の羽片のヘビノネゴザは2002年の11月で銅の蓄積が極端に低くなっていた。またヘビノネゴザは3月にはすべて枯れた状態になっているため，銅の含有量はないように示した。ヘビノネゴザは夏緑性で高い生長性が見られるため9月ごろのヘビノネゴザの銅の吸収が高いと考えられる。

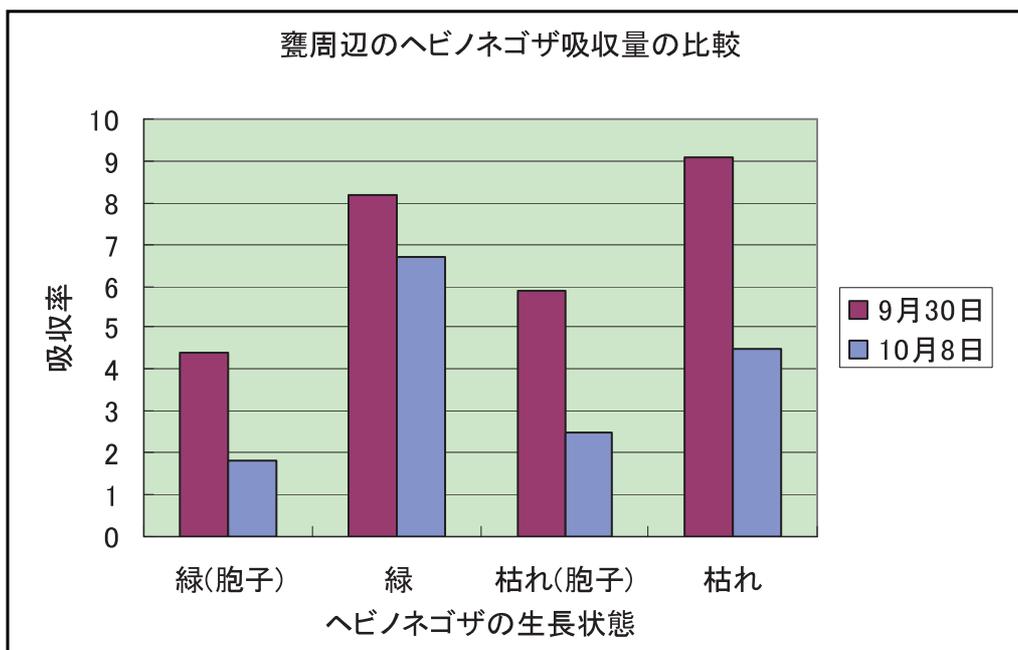


図14 ボタ山の試料と春日大社の試料との銅吸収量の比較

旧広石鉱山以外の場所で生育したヘビノネゴザについて調査した。分析したヘビノネゴザは奈良県の春日大社の本殿に続く灯笼が並ぶ道の傍より採取した。ヘビノネゴザと共に採取した土壌についても分析を行った。土壌

には0.61ppm（平均）の銅が含有されており、ヘビノネゴザの上部で0.05ppmの銅の含有が見られた程度であった。旧広石鉱山では根にも多くの銅の含有が確認されたが、春日大社で採取したヘビノネゴザでは根にはほとんど銅を確認することが出来なかった。これは生育土壤に銅が含まれていないときは根に蓄積する銅は少ないと考えられる。

春日大社に生育していたヘビノネゴザをもとにボタ山、甕の周辺で採取したヘビノネゴザ（2002年9月30日、2003年3月24日、10月8日、11月16日採取）の銅の吸収について比較した。春日大社の銅の吸収量を1としてみると、0.5～9.1倍の吸収量が見られた（図14）。ボタ山よりも甕周辺で採取したヘビノネゴザの方の吸収量が多いといえる。土壤では銅の移動が限られてくるが、甕周辺では銅の量が多く移動が多いと考えられる。旧広石鉱山に生育しているヘビノネゴザは銅を平均3.5倍吸収しているといえる。ヘビノネゴザは銅を吸収し、長い時間をかけながら汚染土壤や河川から汚染物質を取り除いているものと考えられる。

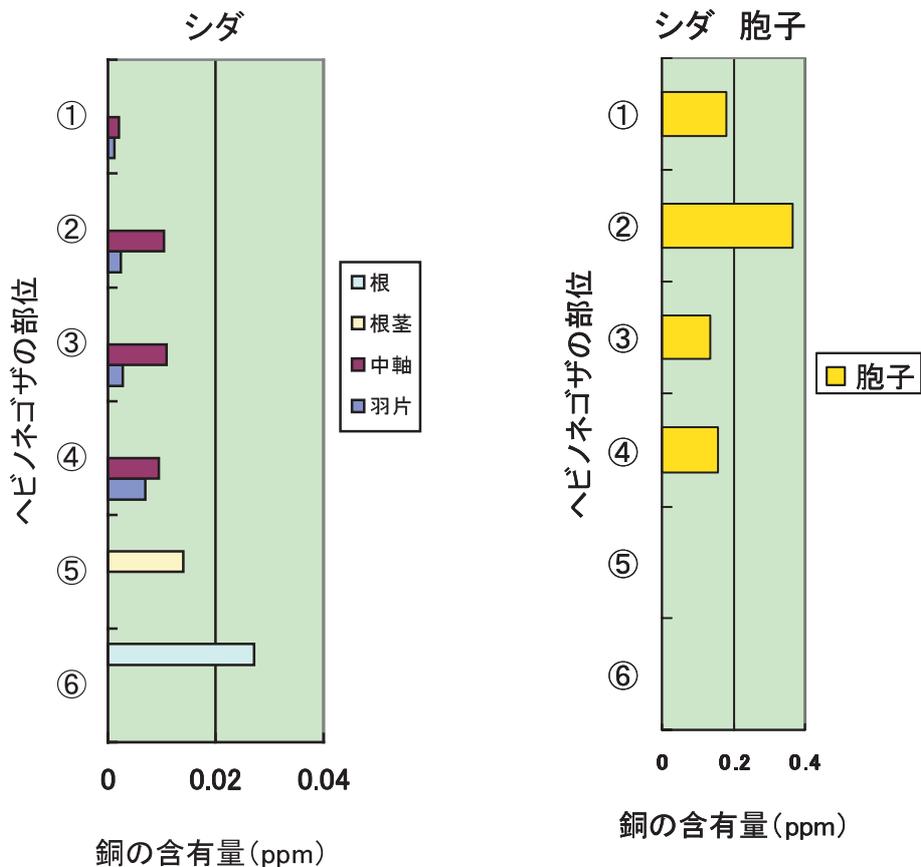


図15 移植した試料の銅の分析値（各部位①②③④は図1と同じく、⑤⑥は根部）

ヘビノネゴザを移植栽培すること試みた。ボタ山に生育していたヘビノネゴザを根ごと採取しこれを1株とした。これに銅を含んでいない土（銅の含有量：0.27ppm）として園芸用に市販されている土に移植した。10日から20日すると緑色の羽片をしていたヘビノネゴザは枯れてしまった。しかし2ヶ月から5ヶ月すると新たに出芽した。そのうちの1株を分析した（図15）。土壤からの銅の供給はなく、根に蓄積されていた銅が根茎から中軸、羽片へと移動したといえる。全体的に銅の濃度は低いが旧広石鉱山のヘビノネゴザの特徴である羽片<中軸<根茎<根になっているが、けれど孢子には多くの銅が含有されていた。根に取り込み可能な重金属が生育土壤中に多量存在するときに、それを受動的に取り込む場合が多い²⁾ことから水分や栄養などと共に受動的に孢子へと移動したと考えられる。

市販されている栽培用の土に銅を添加して汚染土壤（銅の含有量：12.9ppm）を調整した。ここに11月26日まで栽培していた3株を植え替えた。はじめに土から抜き、水に付けながら土を落とした後、銅を添加した土に植えたが、10日から20日ほど3株とも枯れた。この後、初めのように新たな出芽は見られなかった。

次に硫酸銅を溶かし10ppmの銅の水溶液を作った。pH6.5～7.0に調整をした。この水溶液で1株を水耕栽培

した。表1には銅の吸収量を記した。

表1 水耕栽培における10回の銅吸収量

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
銅吸収量 (μg)	1207	1229	1560	1075	1034	1208	1218	937	1237	1217

重金属に汚染されていない地域で生育した同じ種に植物を汚染地に移植しても、すべてが生育するわけではなく、枯死するものも多く、また重金属の取り込みも必ずしも多くない²⁾ことから考えられるように汚染土壤に成長していたヘビノネゴザを移しても、土壤汚染のない場所で発芽生長したヘビノネゴザでは枯死するものもあると考えられる。しかし水溶液で栽培したものについては、ヘビノネゴザをつけていた銅水溶液は銅の濃度が減少していた。ブランクについては水分が蒸発し銅の濃度が増していた。吸収した銅は合計でおよそ0.012gとなる。ヘビノネゴザを10ppmの銅の水溶液に浸した時に生長途中であったヘビノネゴザの生長が明らかに遅くなった。また回数を繰り返すうちに羽片の先端が黄色くなりはじめたが、けれど7回目ごろにはこの同じ株から1つではあるが新たに発芽した。実験室実験ではファイトレメディエーションの効果によって銅を吸収しているものといえる。

文 献

- 1) 千葉百子, 鈴木和夫編集; 健康と元素 — その基礎知識 — 南山堂 1996 p.54
- 2) 本浄高治; 自然環境における汚染と浄化 — 銅, 鉛, カドミウムなどの重金属汚染地域に群生するコケ植物, シダ植物, 低木のリュウブについて — ミレニアムフォーラム物質構造科学の最前線・第4回講演要旨集 金沢大学大学院自然科学研究科 2003 p.15-34
- 3) 酒井雄一郎, 福岡辰彦, 本浄高治; 耐重金属性シダ植物 “ヘビノネゴザ” における鉛の組織内分布と形態 日本化学会誌 No5 1991 p.416-421
- 4) 林雪絵; 鮎喰川支流の水のイオン分析 鳴門教育大学大学院修士論文 1994

Investigation on Phytoremediation Effect of *Athyrium yokoscense* and Analysis of Copper

MURATA Katsuo* and SHIRAIISHI Nana**

Athyrium yokoscense can grow in the mine area such as copper. In Tokushima, it is grown at the old Hiroishi mine in the Kamiyama-cho. *Athyrium yokoscense* was analyzed on the each part such as leaf blade, petiol, rhizome, root. The average content of copper was in the order of the leaf blade<petiol<rhizome<root. There was much copper content in the spore following the rhizome. The spore of the plant needs nutrition for the germination. *Athyrium yokoscense* collected in greatly copper into the spore. The accumulation of copper by *Athyrium yokoscense* was compared in different areas of Hiroishi mine and Kasugataisya of Nara. The upper part of *Athyrium yokoscense* at Kasugataisya collects 0.05ppm copper. This comes from the reason that the average content of copper in the soil around *Athyrium yokoscense* was only 0.61ppm in Kasugataisya. When there are few copper it considers that there is little copper to accumulate in the root. It was compared with the place except for old Hiroishi mine about effect on accumulation of *Athyrium yokoscense*. *Athyrium yokoscense* growing in old Hiroishi mine had the amount of absorption of a 0.5~9.1times. Accumulation of copper by *Athyrium yokoscense* amounts to 3.5 times that in Hiroishi mine referring to that in Kasugataisya sample.

*Naruto University of Education, Natural Science Education

**Naruto University of Education, Graduate School of Education