指標植物中の重金属の状態分析: 尾小屋鉱山による白山神社重金属汚染地域に群落をなすシダ植物ヘビノネゴザの銅と亜鉛の集積状態について

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2019-11-14
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 本浄, 高治, Honjo, Takaharu
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00056075

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.

本浄高治*：指標植物中の重金属の状態分析 —尾小屋鉱山による白山神社重金属汚染地域に群落をなすシダ植物ヘビノネゴザの銅と亜鉛の集積状態について—

Takaharu HONJO*: Characterization of Heavy Metals in Indicator Plants — Studies on the Accumulation State of Copper and Zinc of the Gregarious Fern, *Athyrium yokoscense*, in the Polluted Areas of Hakusan Shrine from the Ogoya Mine in Ishikawa Prefecture

緒　言

屋小屋(おごや)における銅鉱の鉱脈は，延宝6年（1678），加賀百万石五代藩主前田綱紀(つなのり)（1643〜1724）の頃発見されたと言われている。その採掘を手がけたのは，石黒源次（天明3年，1783），山岸三郎兵衛（明治12年，1879），吉田八百松外6名，元加賀藩家老横山隆平と弟の隆盛(明治13年，1880)，横山隆平，隆宝館尾小屋鉱山（明治14年，1881），日本鉱業株式会社尾小屋鉱山(昭和6年，1931)，北陸鉱山株式会社（日本鉱業系列新会社）（昭和37年，1962）である。そこでは主として，黄銅鉱，閃亜鉛鉱，方鉛鉱，黄鉄鉱などが採掘され，選鉱，製錬により銅のほか亜鉛，鉛，硫化鉄，金，銀などを産出していた。しかし，産銅価格の低迷と鉱害の発生が原因で，昭和46年(1971) 12月閉山やむなきにいたり，約300年の歴史の幕を閉じた。尾小屋鉱山が重金属鉱害発生源として注目されたのは，昭和45年(1970) 5月尾小屋鉱山下の梯川(かけはしがわ)流域農用地の産米から1.0 ppm以上のカドミウムを含むものが多く検出され，また梯川中部河川水から基準を上まわる0.011 ppmのカドミウムが検出されてからである。その後梯川河底泥と流域農用地の重金属汚染調査から高濃度の銅，亜鉛，鉛ほか，カドミウム，ニッケル，コバルト，ヒ素，ビスマス，銀なども検出されている。その結果，昭和47年(1972)から名古屋鉱山保安監督部(現中部近畿鉱山保安監督部)，日本鉱業㈱，北陸鉱山㈱，石川県，小松市による鉱害調査と鉱害防止工事が始まり，また昭和52年(1977)からカドミウム汚染田の土地改良事業も着手され，昭和61年（1986）にはその約半分の225ヘクタールが指定解除され，現在も環境保全のための努力が続けられている。

本研究では，前報（本浄ら，1984）のごとく尾小屋鉱山下，梯川流域の出村の白山神社境内とその周辺の重金属汚染廃田において群落をなすシダ植物，ヘビノネゴザの地下部分（根茎と根）に銅と亜鉛を多量集積していることを確認したので，その原因をさらに深く検討するため，この種とその生育土壌を採取し，それらの組織（葉身，葉柄，根茎，根）中の銅，亜鉛，鉛などの重金属集積と生育土壌との関係をケイ光X線法による多元素同時定性分析により，またそれら組織中の銅と亜鉛の分布状態については，ヘビノネゴザの根を材料とし，ミクロトームで横断切片を作り，銅はルベアン酸，亜鉛はジチゾンで呈色反応させた後，顕微鏡観察により確認し，さらにそれらの含量を，その切片をイオン試験紙に接触させ，呈色反応の濃さから半定量分析した。

材料と方法

試料採取：昭和58年5月〜昭和62年5月にわた

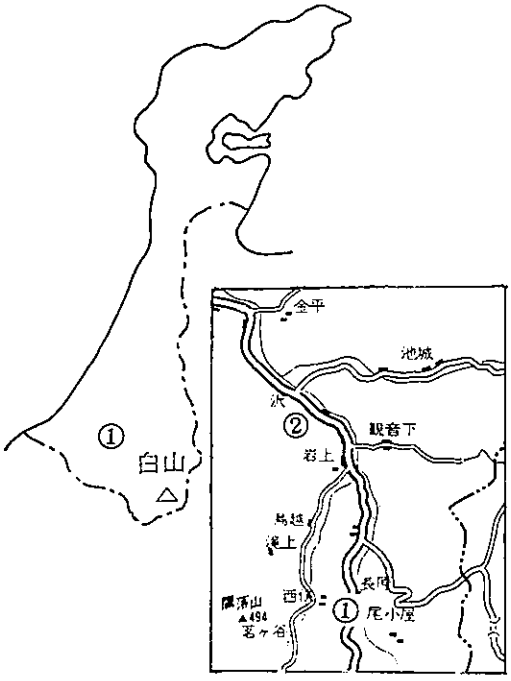


Fig. 1. 石川県尾小屋鉱山下梯川流域のヘビノネゴザ生育地域
① 尾小屋鉱山（小松市尾小屋町）
② 出村白山神社（小松市金平町）

* 金沢大学理学部化学教室
Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanazawa University, 1-1, Marunouchi, Kanazawa 920

り現場調査をし，ヘビノネゴザとその生育土壌の表土を採取したが，その所在地はFig. 1. に示してある。①は小松市尾小屋町にある尾小屋鉱山跡，②は小松バス尾小屋行定期バス停留所，出村(金平地区)近くにある白山神社と周辺廃田の位置を示す。また現場写真として，Fig. 2. に旧尾小屋鉱山の製錬所跡と倉谷ダム堆積場跡を，Fig. 3. に白山神社，20年ほど放置されていた廃田と排客土により改良された農地を示してある。尾小屋鉱山下には多数の支流を持つ梯川が流れ，最後は日本海に注いでいるのであるが，その周辺の農用地はこの川の水を灌漑に使っていたので銅，亜鉛，鉛，カドミウムなどの重金属を含む尾小屋鉱山からの坑排水，排煙等の被害を受け，重金属汚染の原因となった。Fig. 1. で，尾小屋から金平にかけ国道416号線に沿って梯川水系の郷谷川が流れており，特に旧尾小屋銅山と金平金山地域の河川周辺には群落をなすヘビノネゴザが目立ち重金属汚染の指標として利用できることが分かった。

ケイ光X線分析：ヘビノネゴザとその生育土壌は，前報と同様に試料調製後，約0.1 gを秤量し，直径2.0 cmの錠剤とし，ケイ光X線法により，電圧30 kV，電流32 μA，測定時間1,000 secで多元素同時定性分析を行った。

有機試薬呈色と顕微鏡分析：ヘビノネゴザの根を前報と同様にミクロトームで20～200 μの厚さに横断し，組織中の銅はルベアン酸との呈色反応（1％ルベアン酸エチルアルコール溶液，1M水酸化アンモニウム溶液，蒸留水に順次1～2分間根の切片を浸す）により黒色に，また亜鉛はジチゾンとの呈色反応（0.5％ジチゾンを含む5％エチルアルコール－6M水酸化アンモニウム混液，1M水酸化アンモニウム，蒸留水に順次1－2分間根の切片を浸す）により赤色に染色させた後，光学顕微鏡により40～400倍に拡大して観察し，その組織構造と組織中の銅と亜鉛の存在位置を確認し，それらの顕微鏡カラー写真を撮った。また染色液は一度沪過して不溶性のものを除去して呈色反応に用いた。顕微鏡写真は，オリンパスシステム光学顕微鏡BHを用いて，絞り全開，光量7，シャッタースピード1/60秒，倍率40～400倍で撮影した。

イオン試験紙による半定量分析：ミクロトームで横断したヘビノネゴザの根の切片表面の銅と亜鉛の含量は，MERCK社のイオン検出半定量試験紙，Merckoquant Testsを用い，銅イオンの検出はMerkoquant® 10003（0～300 ppm Cu^{+}/Cu^{2+}），亜鉛イオンの場合はMerkoquant® 10014（0～250 ppm Zn^{2+}）または共立理化学研究所の亜鉛分析用試験紙（2～20 ppm Zn^{2+}）を用い，イオン試験紙をイオン交換水，または1M酢酸アンモニウム溶液(pH 7.25)に浸した後，余分の水分を取り，反応部に植物切片を密着させ，2枚のカバーグラスではさみ，クリップで止め数分間放置して呈色させ，銅と亜鉛の標準溶液による呈色の濃さと比較する比色法により半定量した。

結果と討論

ヘビノネゴザが群落をなしている地域はFig. 1. で尾小屋から金平にかけての梯川流域周辺であるが，特に群落が目立った出村の白山神社境内と周辺の廃田においてその種と生育土壌の試料採取を行なった。Fig. 2. の一番上の写真は，旧尾小屋鉱山の面影をとどめる岩底谷に残る一本の煙突で，かって

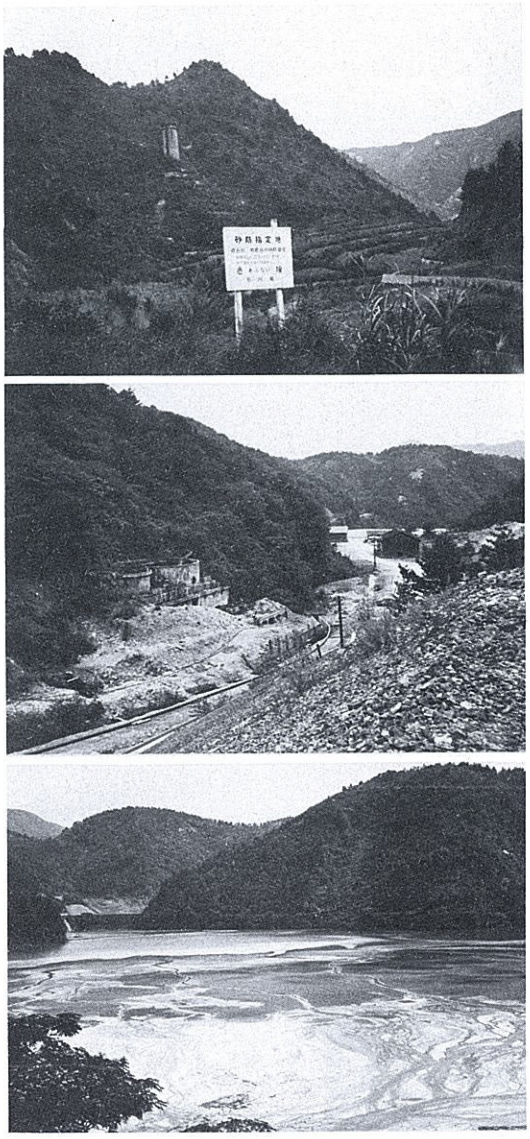


Fig. 2.　尾小屋鉱山跡（上から製錬所の煙突，坑口と選鉱場，ダム堆積場）

は尾小屋鉱山製錬所跡であり，この煙害で山は緑を失ない，10年ほど前まではげ山であったが，植林事業の推進により本来の山の姿を取り戻しつつある。

また他の二つの写真は，尾小屋鉱山倉谷地区の製錬所，選鉱場，ずり・からみ堆積場，沈殿池，乾燥池および坑口等の鉱山諸施設跡である。ヘビノネゴザはこれら地域の周辺で群生あるいは散生していた。Fig. 3. の一番上の写真は，出村白山神社と周辺の廃田の現場を示したものであるが，神社の境内にはヘビノネゴザ，廃田には，ヘビノネゴザ，ススキ，クマザサ，イタドリの群落が見られ，鉱山地域に似た植生を呈していた。また他の二つの写真は，白山神社に向って右側の廃田（昭和60年7月）とその土地改良後の田畑（昭和60年11月）で，その後は主として畑作物が栽培されている。廃田には，ヘビノネゴザ，ススキ，クマザサが群生あるいは散生していた。

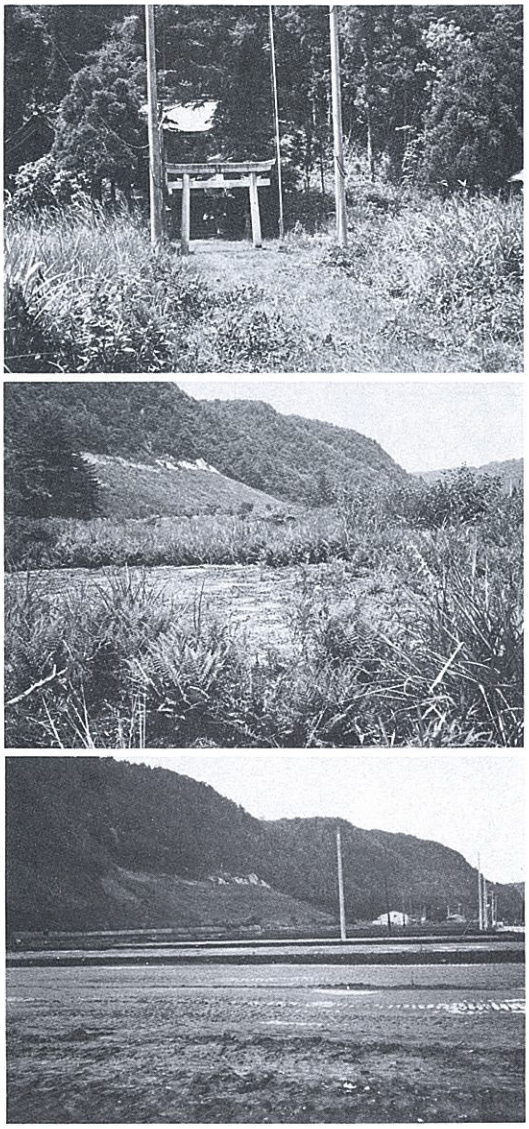


Fig. 3. 出村白山神社周辺（上から出村神社と周辺廃田，土地改良後の田畑）

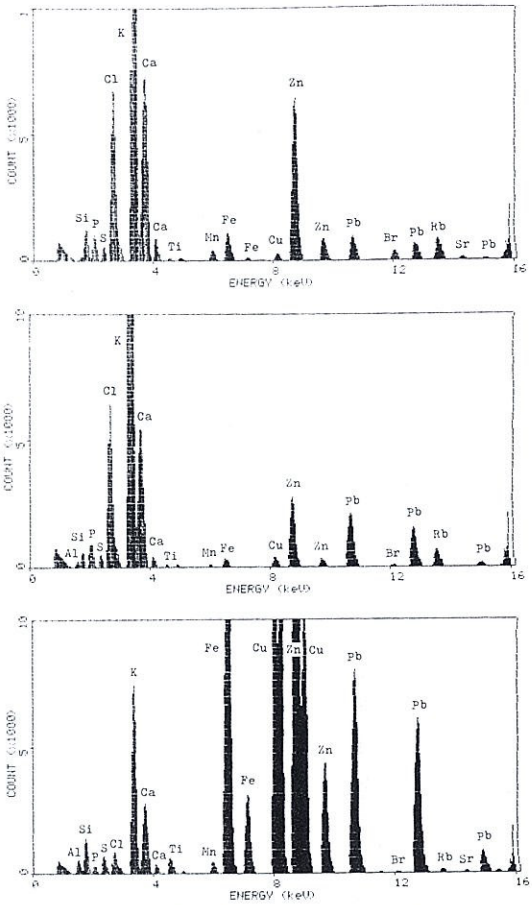


Fig. 4. ヘビノネゴザ（出村白山神社石段左端）の各栄養器官の灰分のケイ光X線スペクトル（上から葉身，葉柄，根茎＋根）

ところで，この出村白山神社境内と周辺廃田で生育していたヘビノネゴザの葉身，葉柄，根茎および根の灰分および生育土壌中の主成分および微量成分を，前報（本浄ら，1984）と同様の分析フローチャートに従って試料分析したのであるが，それらのケイ光X線スペクトルの結果をFigs. 4 - 6. に示してある。一般に，アルミニウム，ケイ素，リン，イオウ，塩素（X線管からのロジウムのピークも少し重なっている），カリウム，カルシウム，チタン，マンガン，鉄，銅，亜鉛，鉛，臭素，ルビジウム，ストロンチウム，カドミウム（23.1 keVのところにピークが現われる）などの元素が検出された。これらの実験結果から，銅，亜鉛，鉛などの重金属汚染地域で生育しているヘビノネゴザは，その生育土壌中の重金属汚染の程度に比例してそれらの葉身，葉柄，根茎と根

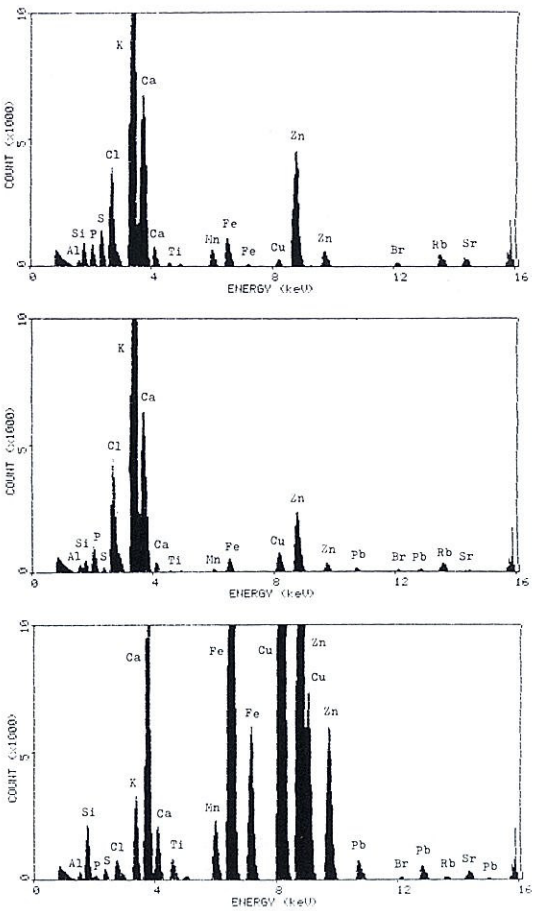


Fig. 5.　ヘビノネゴザ（出村白山神社周辺廃田）の各栄養器官の灰分のケイ光X線スペクトル（上から葉身，葉柄，根茎＋根）

などの各栄養器官，特に地下部分の根茎と根に多量の銅，亜鉛，鉛などを集積していることが確認できた。ヘビノネゴザの重金属含量は，一般に，銅と鉛は葉身＜葉柄≪根茎＋根の順に増大しているが，亜鉛と鉄は葉柄＜葉身≪根茎＋根で，葉身と茎柄の濃度が逆転している。またカドミウムについては，一般に根茎や根より葉身や葉柄，特に葉身にその濃度の多くが検出されると報告されている（円子ら，1977）。そこで，これら重金属集積の耐性機構を探るために，ヘビノネゴザの組織中の重金属の分布状態は，その栄養器官をミクロトームで横断し，ルベアン酸で組織中の銅を，またジチゾンで組織中の亜鉛を呈色させ，光学顕微鏡により確認した。それらの観察形態をカラー写真に撮り，ヘビノネゴザの根における銅の分布状態はFig. 7. に，亜鉛の分布状態はFig. 8. に示してある。ヘビノネゴザの根は表皮でおおわれ，その内部に皮層と中心柱があり，中心柱ははっきりした内皮に囲まれた二原型の放射中心柱となっているが，横断切片は，ヘビノネゴザの根の皮層の細胞

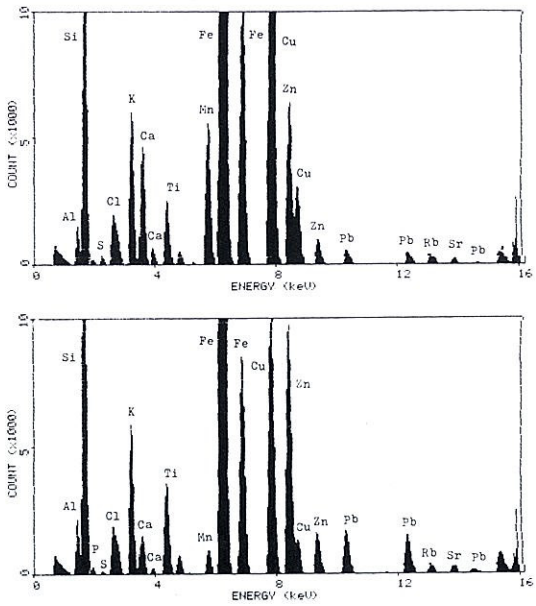


Fig. 6.　ヘビノネゴザ生育土壌のケイ光X線スペクトル（上から出村白山神社石段左端と周辺廃田）

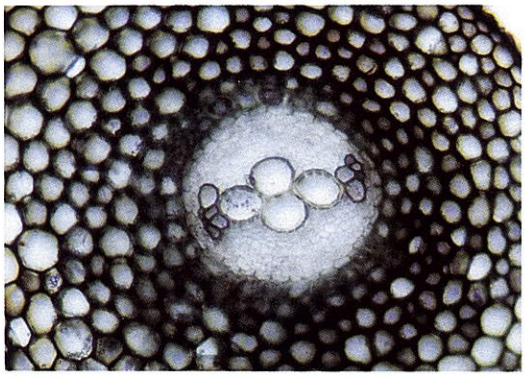


Fig. 7.　ルベアン酸と組織中の銅との呈色反応により黒色に染色したヘビノネゴザの根の横断面の顕微鏡写真（倍率：100倍）

Fig. 8.　ジチゾンと組織中の亜鉛との呈色反応により赤色に染色したヘビノネゴザの根の横断面の顕微鏡写真（倍率：100倍）

壁がルベアン酸で黒色に染色され，銅の大部分がそこに集積されていることが分かった。またヘビノネゴザの根の皮層の細胞壁と細胞内部，中心柱など組織細胞全体がジチゾンで赤色に染色され，亜鉛の大部分が組織全体に集積されていることが分かった。鉛については，前報（本浄ら，1984）のごとく，ロジゾン酸ナトリウムによる赤色の染色から，ヘビノネゴザの根の皮層の細胞壁に鉛の大部分が集積されていると思われる。さらにヘビノネゴザの根茎，葉柄，葉身をミクロトームで横断し，ルベアン酸，ジチゾン，ロジゾン酸ナトリウムで呈色反応させたところ，呈色反応は主として中心柱で起こり，この部分に重金属の大部分が集積されていることが分かった。これらのことから，植物生理学的にはヘビノネゴザの根の表皮から取り込まれた重金属は中心柱に向って移動するが，その際一般的に植物組織中での重金属元素の挙動を説明するのに提案されている二つのルート（日本土壌肥料学会編，1982）をヘビノネゴザの場合にあてはめてみると，銅と鉛は細胞壁を通って中心柱に向って移動する際，内皮に達したこれら重金属の大部分はここで止まり，その一部が内皮を通り仮道管に入り上部に移動するアポプラズム（細胞壁）型，すなわち皮層細胞壁（細胞壁）のフリースペースを通って移動する機構と思われる。一方，亜鉛はシンプラズム（細胞内）型，すなわち細胞内を原形質流動によって中心柱に向って運ばれ，細胞間は細胞間連絡を通って拡散し，内皮を通り仮道管に入り上部に移動する機構と思われる。根の組織との結合の強さは，亜鉛＜鉛＜銅の順に増大している傾向があり，根につかまらなかった重金属は葉柄や葉身に集積されると思われる。カドミウムは亜鉛と類縁元素であり，化学的挙動が似ていることから，根の組織との結合が弱く，葉柄や葉身，特に葉身に集積される傾向を示すものと思われる。なおヘビノネゴザの根に集積している鉄は，その横断切片をフェロシアン化カリウムにより呈色反応させ青色に染色後，顕微鏡観察したところ，その大部分が根の表皮部分に局在分布していることが確認できた。ところで，これら重金属のヘビノネゴザの組織中での結合状態については，細胞壁の主成分であるセルロース，ペクチンなどの多糖類とか，ある種のアミノ酸との錯体形成，組織に取り込まれた硫酸イオンとの硫酸塩の形成などが考えられる。またイオン試験紙テストにより，ヘビノネゴザの根の横断切片の表面に銅と亜鉛が100 ppm以上存在することが確認できた。

終わりに，本研究中に適切なご助言を賜った金沢大学理学部（生物学教室）里見信生先生，河合　功先生，石川県環境白書（昭和59年度版）をいただきました石川県環境部環境管理課に深謝致します。

引用文献

石川県環境部(編)．1985．石川県環境白書―昭和59年度版―．石川県．

日本地球化学会（編）．1978．水汚染の機構と解析．産業図書．

本浄高治・八田昭夫・西川洋明・里見信生．1984．尾小屋鉱山による梯川重金属汚染流域に群落をなすシダ植物ヘビノネゴザの銅および亜鉛の集積について．植物地理・分類研究　32：158-160.

――・――・谷口　陽．1984．指標植物中の重金属の状態分析―金沢城鉛瓦による汚染地域に群落をなすシダ植物ヘビノネゴザの鉛の集積と耐性について―．植物地理・分類研究　32：68-80.

円子隆平・橋本康孝・原子　昭・松尾　章・横山淳子．1977．青森県公害調査事務所所報　2：8-13.

日本土壌肥料学会(編)．1982．植物と金属元素―その吸収と体内挙動―．博友社．

Summary

The gregarious fern, *Athyrium yokoscense* (FRANCH et SAV.) CHRIST, is found in areas of heavy metals pollution in the vicinity of Hakusan Shrine and in an abandoned rice field made useless by mine drainage of the Kakehashi River from the Ogoya Copper Mine in Ishikawa Prefecture.

A simultaneous analysis by x-ray fluorescence was made of principal elements (Al, Si, Ca, K, Fe, Cu and Zn) and trace elements (P, S, Cl, Ti, Mn, Br, Rb, Sr, Pb and Cd) in both vegetative organs of this fern species and its associated soils.

A root of *Athyrium yokoscense* in which heavy metals accumulated in high concentrations was also cut with a microtome; small sections were stained with rubeanic acid for copper and with dithizone for zinc in order to ascertain the distribution of heavy metals in the tissues by means of microscopy. The concentrations of heavy metals on the surface of the transverse section were determined semi-quantitatively by bringing it into contact with ion test papers (Merckquant Test Strips) and observing specific color reactions.

The results are summarized as follows: A quantitative analysis by x-ray fluorescense detected Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb, Br, Rb, Sr and Cd in plants and soils. In

general, the underground parts (root and rhizome) contain copper, zinc, lead, and iron in high concentrations, while the above ground parts (petiole and leaf blade) contain zinc and cadmium in high concentrations. Copper and zinc present in higher concentrations in the fern tissues could be detected histochemically. It was found that the roots of *Athyrium yokoscense* accumulated a large amount of copper on the exterior cell walls surrounding the stele, whereas a large amount of zinc was accumulated throughout the cells including both exterior cell walls surrounding the stele and stele parts of the root cells. In the case of the petiole and leaf blade, heavy metals were distributed over nearly the entire vascular bundle. Heavy metals in the sectioned fern roots were detected at more than 100 ppm for both copper and zinc.

(Received June 25, 1987)

○ **フシネキンエノコロ清水港に帰化する**（大村敏朗）Toshirō OHMURA: *Setaria genuiculata* was Naturalized at Shimizu Port, Shizuoka Prefecture

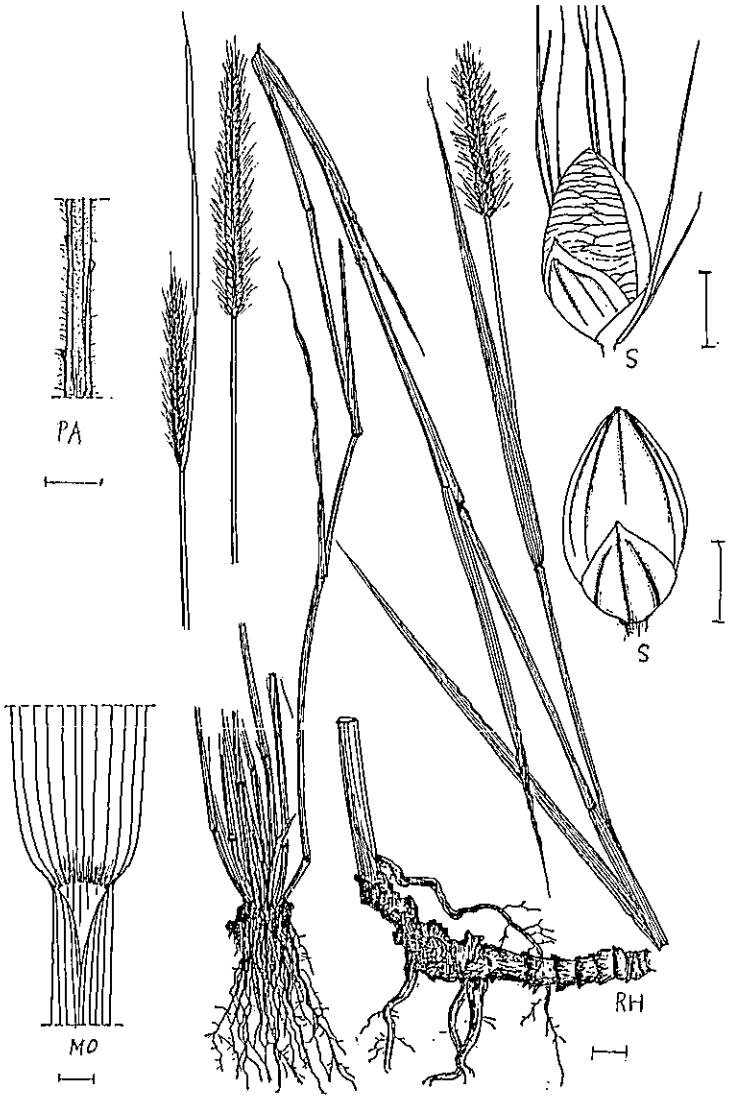
フシネキンエノコロ *Setaria genuiculata* (LAM.) P. BEAUV. (1812)は一見コツブキンエノコロに似るが，花穂はより細長く，芒は長く，多年草で，根茎は長さ4〜5 cm，地中に横たわり瘤状である。よって，他のキンエノコログサ類と違い，稈を持って株を引き抜こうとしても不可能で，1本づつ稈が抜けてくる特徴がある。昭和62年6月28日，福岡の長田武正博士の依頼で，イネ科植物を採集のため清水港に行った時の収穫で，同氏の同定である。*S. genuiculata*は戦前（1942年）大井博士がコツブキンエノコロを発表する際に当てられた学名で，その後，長い間使われて来たが，小山鉄夫氏が戦後(1962年)，間違いに気ずかれて，植物研究雑誌第37巻8号，p. 236で訂正された。小山・初島両博士は琉球地方（大東島等）に帰化（？）しているのを発表されておられるので，清水港は本邦第2の産地となる。

本種は，北米の東南部や亜熱帯，熱帯地方，台湾等に広く分布する雑草であるという。

最後に同定して下さった長田博士に御礼を申し上げます。

(Received Jun. 30, 1987)

(〒420　静岡市馬場町6；6, Babamachi, Shizuoka City)



PA：花序の中軸；MO：葉鞘と葉舌；RH：根茎；S：小根；スケールは1 mm長.