

水耕オオムギにおけるカドミウムとコバルトの過剰症と 植物体内の元素濃度

河合成直¹、山口瑤介¹、真船公平¹、伊藤じゅん²

¹岩手大学連合農学研究科
020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

²(社)日本アイソトープ協会滝沢研究所
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-1

1 はじめに

コバルトと植物 多くの微量元素が高濃度で与えられた時、植物に障害が発生する。これは植物に必須と考えられる微量元素、そして、植物に必須ではない微量元素両方について知られている。Coは、必須元素ではないが、有益な効果と害の両方を与える。CoはビタミンB₁₂の構成元素として知られている。これまで、動物におけるCo欠乏症を防ぐ目的で、植物に施用されてきた。動物や微生物とは対照的に、植物において、Coはマメ科植物の根粒における*Rhizobia*と、相利共生窒素固定のため、窒素固定ラン藻類のいくつかの種において必須とされているにも関わらず、全ての植物において必須性が認識されていない。Coは現在、必須元素ではなく、有用元素と規定されている¹⁾。過剰なCoは植物に害を及ぼし、過剰となる濃度水準は種によって異なるが、乾物での30-40 ppmの濃度範囲が普遍的である。

大抵の場合、Co過剰は、環境汚染の結果生じる。過剰症は、新葉の葉脈間クロロシス、葉の縁と先端部の白化、葉のクロロシスと先端部の損傷が挙げられる。Coは、光合成や種子発芽、種子成長、そして生育や収量のような、植物における多くの過程を阻害する²⁾。植物の微量元素含量に関するデータ収録³⁾の記載によると、奥田・高橋³⁾は、培養液栽培の水稻のCo過剰症について次のように報告している。地上部は、まず、下位葉の先端及び周辺から白茶色に枯れ上がり、次いで上位の新葉に葉脈間クロロシスを生ずる。この症状は、Co 5 ppm以上で明らかに認められ、20 ppm以上で枯死する。根部では、5 ppmで新根の発生が悪くなり、根色も淡黄橙色化し、古い根は、ヒモ状に伸張し、新根の伸長は途中で停止するため2段根の特異的な形態をとる。

しかし、Coが土壌中に過剰に存在することは我が国では通常はありえない。故に、わが国の自然環境においてCo過剰は起こっていない。しかし、Co欠乏は、ほとんど全ての大陸で、全ての国で報告されている⁴⁾。これはトウモロコシなどの飼料作物において知られているが、オオムギにおけるCoの挙動、役割などは未だに明らかになっていない部分も多いと思われる。よって、本研究では、オオムギを用いて、Coが植物栄養生理に与える影響を調査した。

カドミウムと植物 カドミウム(Cd)は、植物と動物の両方にとって本質的に毒性で、水生生物または陸上生物において全く有益な生物学的作用をもたない。最近、人間活動の結果としての生命体系における

Cd 集積は、世界中の農業的生態系において、作物の生産性と質を危険にさらし得る環境問題として論じられている^{5,6,7,8,9)}。Cd は、亜鉛精錬の副産物として得られ、やわらかく、延性、展性にとみ、加工しやすいので、アルカリ蓄電池の陰極、軸受け合金、易融合金の成分、鋼鉄などのメッキ、半導体 CdS の原料に用いられる。また、原子炉の制御棒にも用いられる。Cd の粉末や煙を吸い込むと猛毒である¹⁰⁾。土壌中の Cd 汚染は、作物の生育阻害より、収穫部位—可食部位—への集積・濃縮と、それを食べる動物への影響が問題になる場合が多く、食物連鎖を通じてヒトの病気を引き起こす^{11,12)}。腎不全にそれが誘引する骨軟化を伴うイタイイタイ病は、最も良く知られた Cd 汚染によるヒトの病気である¹³⁾。Cd は、とても低い濃度でさえ、損傷を引き起こすと示唆され¹⁴⁾、健全に見える植物も哺乳動物に対して毒性であるレベルの Cd を含むかもしれない¹⁵⁾。

Cd は植物において、水と無機栄養素の吸収を減少させると同時に、光合成、呼吸、窒素代謝の阻害を引き起こす可能性がある¹⁶⁾。Cd 過剰生育阻害作用は、2 μM (0.2 ppm) で起こる¹⁷⁾。植物にとって、土壌中の pH が 4.5~5.5 の範囲で Cd をよく吸収しやすく、pH6.5 以上では吸収しにくい。過剰症状としては、根の生育障害が生じる。また、Cd 過剰は植物の Fe 欠乏を誘導する。

Cd は化学的に Zn と似た性質を持ち、有意な相互作用は、植物によるそれらの集積において Cd と Zn との間で起こりうる¹⁸⁾。植物細胞内では、Cd は Zn フィンガー転写因子のような Zn 結合分子から Zn と置き換わる、もしくはカルモジュリンにおける Cd 結合部位に付着するかもしれず、それによって細胞内シグナル伝達に支障を来す¹⁹⁾。この遷移金属は酸化還元反応を通して活性酸素種(ROS)を生産することができず、Harber-Weiss/Fenton 反応に関与しないにもかかわらず、Cd インキュベーションの数時間後、すでに、酸化ストレスを引き起こす可能性がある^{19,20)}。さらに、有力な報告が矛盾する結果をもたらした。例えば、Choudhary ら²¹⁾と Oriver ら²²⁾は、少なくとも幾つかの条件下、例えば、コムギが Zn 欠乏土壌で育てられる時に、生育培地中の Zn レベルの増加は、穀粒における Cd 集積を減少させるという報告をした。同様に、レタスとハウレンソウにおいて、Zn は、根からの Cd 吸収と根部から地上部への Cd の導管移行の両方を減少させた²³⁾。Hart ら²⁴⁾は、パンコムギとデューラムコムギの苗において、Cd の根からの吸収と Zn の根からの吸収との間の競合作用を明らかにし、結果として、Cd と Zn は根細胞膜で共通の移行体系を共有しているかもしれないということを示唆した。しかし、他の研究は、Cd と Zn との間に相互作用は全く無い²⁵⁾、または、Cd と Zn との間の相乗作用の証拠がある^{26, 27, 28)}と論じており、結論は出ていない。

工藤²⁹⁾は、オオムギの生長量や無機養分の含量、およびムギネ酸分泌に対する Cd の影響を報告した。また、水耕培地中の Cd 濃度を 5 μM にしたが、天然の Cd 汚染土壌中では、Cd 含有量が 1 kg 当り 2.5 mg であった場合、土壌溶液中の Cd 濃度は、0.002~0.007 μM である³⁰⁾ことから、自然界では、土壌溶液中の Cd 濃度が 5 μM に達することは稀である。そこで、工藤²⁹⁾は、本研究では 0.5 μM 以下の Cd 濃度でオオムギの水耕栽培を行い、その生理的影響を検討した。

2 実験方法

2-1 実験植物と栽培方法

2-1-1 植物種と品種

六条オオムギ品種ミノリムギ (*Hordeum vulgare* L. cv. Minorimugi) を実験植物とし、以下の手順で水耕栽培した。育苗は温室、又は、ファイトトロン (人工気象室) 内で行った。

2-1-2 種子殺菌と発芽

2 % さらし粉水溶液にミノリムギの種子を入れ、スターラーで攪拌 (30 分間) しながら表面殺菌した後、1 時間以上流水ですすいだ。この種子を湿ったタオルで包み、バットに乗せ、ラップで全体を覆い、25 °C の恒温器に入れ、24 時間以上静置して発芽させた。

2-1-3 播種と育苗

熱湯消毒した 15 L のプラスチック容器に 1.0 mM CaCl₂ 溶液を入れ、その中に熱湯消毒済みのポリエチレン製ネットを水面に合わせて固定した。発芽した種子を並べ、土壌条件再現のため 3 日間アルミを覆って、生長を待った。

播種から 7 日後、1/5 濃度の Hoagland & Arnon No.2 培地 (以降、+Fe 培地と呼ぶ。参照: Table II-1) へ、播種したネットごと移し、植物が 1.2 葉期になるまで育苗した。この培地の pH はデジタル pH メーター (HORIBA カスタニー ACT pH メーター D-24) で毎日測定し、pH の調整は、1.0 M HCl または 1.0 M NaOH を加えて、pH を +Fe 培地においては 5.5 に -Fe 培地においては 6.5 に調節した。

表 1 Hoagland & Arnon No2 培地 (+Fe) と Hoagland & Arnon No2 改変培地 (-Fe) の組成

Element	Salt concentration (mM)	
	+Fe	-Fe
KNO ₃	6.0	6.0
Ca(NO ₃) ₂	4.0	4.0
NH ₄ H ₂ PO ₄	1.0	—
NaH ₂ PO ₄	-	1.0
MgSO ₄	2.0	2.0
Fe-EDTA	2.0×10 ⁻²	-
H ₃ BO ₃	3.0×10 ⁻³	3.0×10 ⁻³
MnSO ₄	5.0×10 ⁻⁴	5.0×10 ⁻⁴
CuSO ₄	2.0×10 ⁻⁴	2.0×10 ⁻⁴
ZnSO ₄	4.0×10 ⁻⁴	4.0×10 ⁻⁴
H ₂ MoO ₄	5.0×10 ⁻⁴	5.0×10 ⁻⁴

2-1-4 移植

幼植物が 1.2 葉期になったとき、幼植物 3 個体を一株としてスポンジで包み、16 株を 1/2 濃度の +Fe 培地 (pH 5.5) または、Hoagland & Arnon No2 改変培地 -Fe 培地 (pH 6.5) が入ったポリバケツ (10 L) に移した。これは常時エアレーションポンプで通気した。この培地の段階で目的の Co 又は Cd 濃度になるように CoSO₄ または CdSO₄ 溶液を加えた。pH 調製は 2 日おきに行い、液量は脱塩水を適宜加えて維持した。

2-1-5 鉄欠乏培地

これは 1/2 濃度の Hoagland & Arnon No.2 培地から Fe-EDTA を除いた培地であり、Hoagland & Arnon No.2 改変培地と呼ぶ。この準備について、10 L のポリバケツ等は Fe などの金属混入を防ぐために 0.1 N 希硝酸に 30 分以上浸け置きし、純粋製造機を通した脱塩水 (電気伝導度 0.2 μS m⁻¹ 以下) ですすいから使用した。

2-2 クロロフィル含量の測定

培養中の植物の、第 3 葉以降の葉の先端、中央部、葉元の 3 箇所を葉緑素計 (SPAD-502 Minolta Co, Ltd) を用いて SPAD (Soil & Plant Analyzer Development) 値を測定した。

2-3 導管溢泌液 (Xylem sap) の採取

採取時間 (おもに 13:00 から 3 時間程度) 直前に、ステンレス製の剃刀で地上部を切除し、パストゥールピペットを用いて、あらかじめ秤量したサンプル管に導管溢泌液を採取した (パストゥールピペットとサンプル管は 0.1 N 希硝酸による除金属処理を行った)。採取後直ちに秤量し、サンプル管の重さを差し引き、導管溢泌液の重量とした。

2-4 植物体内の元素分析方法

2-4-1 乾物重測定用の試料の採取

本培養から 14 日目にサンプルをペーパータオルに包んで採取し、封筒に入れ、48 時間以上 60-80°C の乾熱器に入れ、十分乾燥したと思われる時点で取り出した。

2-4-2 硝酸-過塩素酸分解法

2-4-1 で得られた試料を地上部と根部に分け、乾物重を測定後、100 mL コニカルビーカー (30 分以上、希硝酸に浸漬洗浄した) 内で鉋を用いて細かく刻み、特級硝酸を 5 mL 加え、時計皿 (稀硝酸処理をした) で蓋をした。翌日 100 °C に加熱したホットプレート上で加熱分解させた。液量が減ったときは適宜、特級硝酸を 5 mL ずつ加えた。固形物が見られなくなった後に硝酸の 1/5 量の過塩素酸を入れ、160 °C で 1 時間程度加熱した。冷却後、ろ紙 (ADVANTEC TOYO No.5C 90 mm) でろ過して 50 mL に fill up し、生体成分分析用試料とした。

2-4-3 フレーム式原子吸光光度法による定量

2-4-2 から得られた試料溶液中の Fe、Zn、Mn、Co、Mg、Cu、Cd 濃度は、フレーム式原子吸光光度計 (SHIMADZU AA-6200) により吸光度を測定した。また、元素ごとに既知濃度の標準溶液の吸光度を測定し、検量線を作成して各元素濃度を求めた。

2-4-4 フレームレス原子吸光光度計による微量元素の定量

フレーム式では検出できなかった植物体の硝酸-過塩素酸分解溶液、及び 2-3 で得られた導管溢泌液の Fe、Cu、Mn、Zn、Co、Cd の定量分析には、原子吸光光度測定機器 (HITACHI 180-30) を用いた。なお、サンプル測定前に、0~100 ppb の標準液を作り、検量線を作成した。用いた器具は全て 0.1 N HNO₃ によって除金属処理をした。

2-4-5 PIXE による定量

2-4-2 から得られた試料溶液、又は 2-3 で得られた導管溢泌液中の元素濃度の分析は、価電子誘導 X 線分析 PIXE (Particle Induced X-ray Emission) を用い、多元素にわたって分析された。

2-5 統計処理

実験で得られたデータの統計処理を行った。今回は岩手大学情報処理センターの大型コンピュータ SAS の統計処理ソフトである SAS statistic の anova を用いてデータの分析を行い、多重検定を行った。なお全ての統計処理は、t 検定を用いて行った。

3 結果及び考察

3-1 コバルト過剰条件下におけるオオムギの生育

図 1 にオオムギの生育の様子を示した。Co 濃度が 0、0.1、1 μM の区では、差がほとんど見られなかったが、10 μM の区では、地上部の Fe クロロシス、そしてネクロシスが見られ、顕著な生育阻害が観

察された。根部においても、側根の激しい伸長抑制を招き、全体的に顕著な生育阻害が見られた。さらに、褐変のような症状が観察された。それは、乾物重の有意な差として反映された(図2)。地上部と根部で有意な乾物重の減少が見られたのは、10 μM の区のみであり、他の区には有意な差は無かった。



図1 オオムギの生育の様子

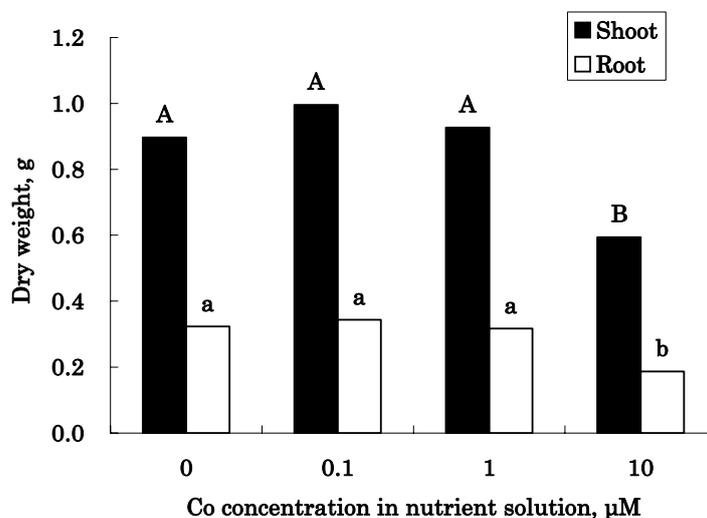


図2 Fe供給オオムギの生育量(乾物重)

統計的に有意な差があるデータには図中に異なるアルファベットを付した。

これらの結果より、Coによる害が顕著に現れる濃度は10 μM であるということがわかった。Co害の視覚的症状は、地上部のクロロシスとネクロシス、根部の生育阻害であった。オオムギのCo害は、水耕栽培において、1~10 μM の間の濃度で現れることが示された。

図3にフレイム式原子吸光光度法で測定した植物体のCo含量を示した。水耕培地のCo濃度0、0.1 μM の処理区において、Coは地上部、根部において検出されなかった。Co 1 μM 区では根部のみが検出された。やはり、Co濃度10 μM 区では、1 μM 区と比較すると値は高かった。また、10 μM 区は、地上部

と根部を比較すると、地上部の Co 含量はかなり低く、Co は根部に蓄積したことがわかった。

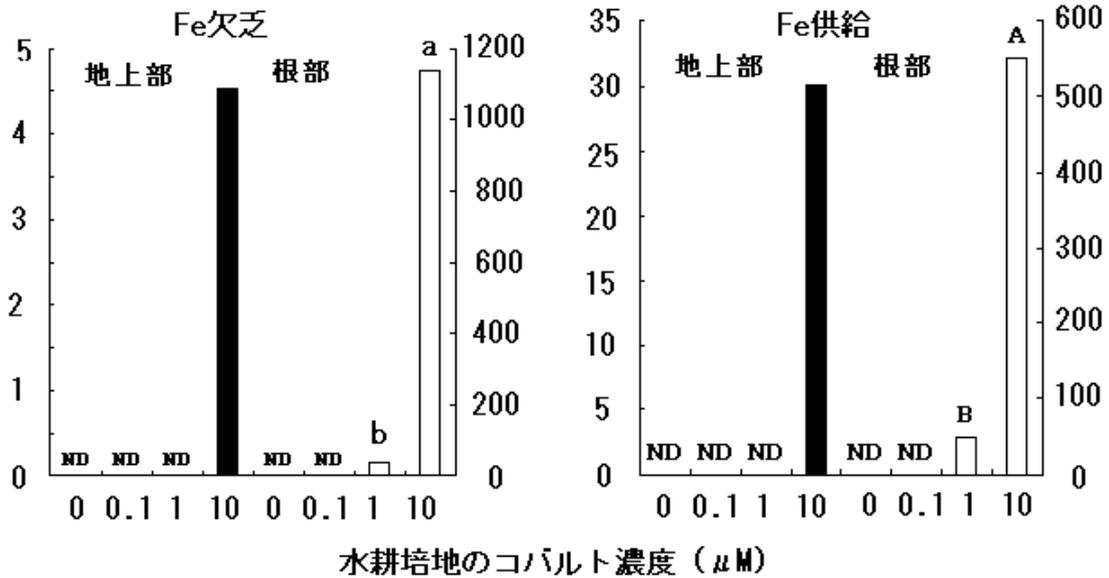


図3 Fe 供給オオムギの Co 含量
ND: 検出されなかった

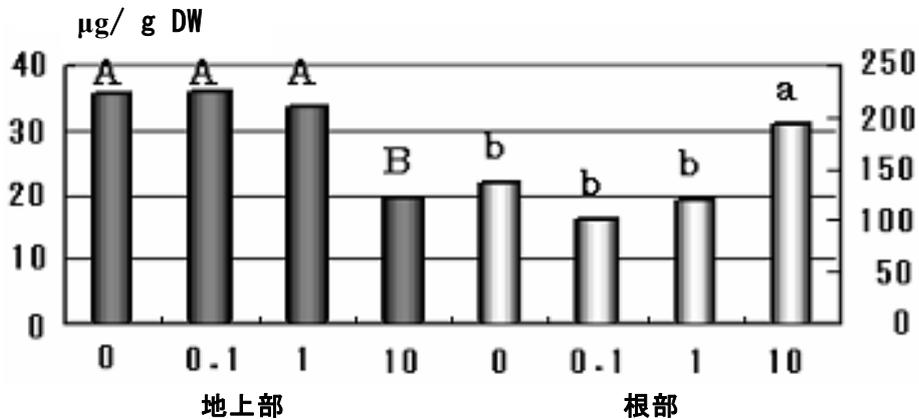


図4 Fe 欠乏植物の Fe 含量

図4に Fe 欠乏オオムギの Fe 含量を示した。Fe 欠乏処理においては、いずれの Co 濃度処理においても Fe クロシス（葉の黄化）が見られた。地上部では単位重当りの含量が Co 10 μM 区で有意な低下が見られた。また、根部の Fe 含量は、Co 10 μM 区で有意な増加が見られた。このことは、Co 過剰により、Fe が地下部に集積し、地上部への移行が抑えられることを示していた。

3-1-1 Co 過剰植物の硝酸一過塩素酸分解液のフレイム式原子吸光光度法と PIXE による測定データの比較

表2に Fe 供給オオムギの硝酸一過塩素酸分解液の Fe と Co 濃度を原子吸光光度計と PIXE で測定した結果の比較の一部を示した。元素によってはフレイム式では検出されなかったが、PIXE では検出された

試料溶液もあった。多くの区で Co 濃度は PIXE のほうがほぼ 2 倍高い値を示した。そして、各試験区のデータを有意差検定した結果はフレーム式原子吸光光度法と PIXE ではほぼ一致した。

表 2 Fe 供給オオムギの硝酸分解液の Fe と Co 濃度のフレーム式原子吸光光度法(Flame AA)と PIXE の測定値の比較 (ppm)

Fe		Co	
Flame AA	PIXE	Flame AA	PIXE
0.4127	0.5220	0	0.0039
0.7143	0.9094	0	0.0023
0.5873	0.6879	0	0.0225
0.9841	1.1395	0.3612	0.5399
1.1508	1.4303	0.3452	0.6369
1.8095	2.3540	0.2167	0.3896
0.5317	0.6333	0.1445	0.2280
0.3571 × 2	0.6365	0.1525 × 2	0.3140
0.4603	0.6125	0.4255	0.6519
1.5000	1.7037	1.6777	3.0128
1.0635	1.1530	1.6456	2.7890
0	0.0910	2.2076	3.8813

図 5 に Fe 供給オオムギの Fe 含量をフレーム式原子吸光光度計と PIXE で測定した結果の比較を示した。全ての区において、PIXE は若干ではあるが高い値を示した。データの同処理区同士の比較における、個体差による値のばらつきについては、どちらも同程度であったと思われる。両方のグラフの形はほぼ同じで同じ傾向を示した。しかし、フレーム式では、Co 10 μM 区の地上部で有意な低下が見られたが、PIXE では有意差が無かった。このようにわずかな違いは見られたが、データの傾向は一致し、生物学的な結論は同じであった。

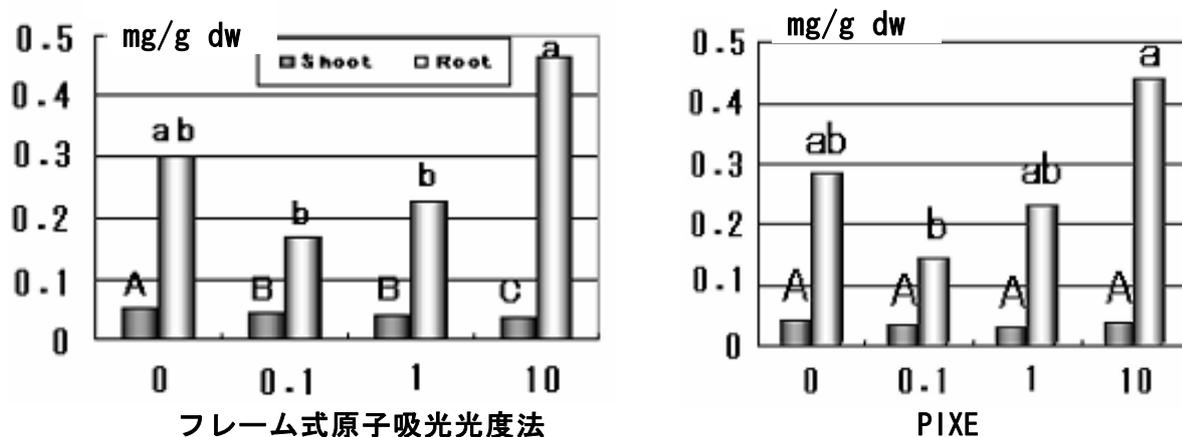


図 5 Fe 供給オオムギの Fe 含量

3-1-2 Co 過剰植物の導管溢泌液のフレイムレス原子吸光光度法と PIXE による測定データの比較

Co 過剰処理した鉄供給オオムギより 1-3 で述べた方法で採取した導管溢泌液の Fe、Mn、Zn、Cu をフレイムレス原子吸光光度法と PIXE で測定し、そのデータの比較を行い表 3 に示した。

Fe: 1つの例外を除いて、全てフレイムレス式原子吸光光度法の測定値が PIXE の約 1.5~2 倍近い値となった。同処理区同士に比較における、個体差による値のばらつきの度合いについてはおおよそ一致した。

Mn: フレイムレス式の値は PIXE の約 2 倍の値となり、同処理区同士に比較における、個体差による値のばらつきについては、PIXE の方が少ない傾向が見られた。

Zn: フレイムレス式の方が 2 倍から 5 倍以上、大きな値を示した。同処理区同士に比較における、個体差による値のばらつきはフレイムレス式の方がはるかに大きかった。

Cu: 特に一貫した傾向は見られず、2つの測定法のデータは 1/2 から 2 倍の間で異なるようである。

以上の結果は、フレイムレス式原子吸光光度法が PIXE より大きな値を示す傾向が有ることを示していたが、測定法の問題である可能性もあるが、測定試料溶液を凍結するために、解凍する過程でタンパク質などとともに金属元素が沈殿し、PIXE において低く測定される可能性があるため、今後検討を要する。

表 3 鉄供給培地で生育させたオオムギの導管溢泌液の金属含量の測定法による比較

Co 処理濃度 (μM)	Fe 濃度 (ppb)		Mn 濃度 (ppb)		Zn 濃度 (ppb)		Cu 濃度 (ppb)	
	Flameless	PIXE	Flameless	PIXE	Flameless	PIXE	Flameless	PIXE
0	458	266	262	121	584	97.5	33.1	16.8
	399	282	211	93.3	267	88.6	15.0	31.0
0.1	499	282	272	122	199	86.6	51.1	12.3
	413	354	262	100	641	212	48.1	51.4
1	354	246	192	97.4	234	154	57.1	30.5
	377	1099	281	133	175	107	51.1	29.9

3-2 カドミウム過剰条件下におけるオオムギの生育

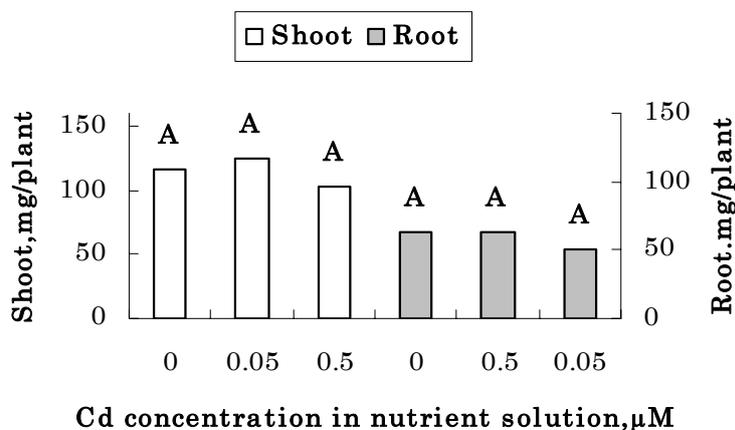


図 6 カドミウム処理したオオムギの乾物重

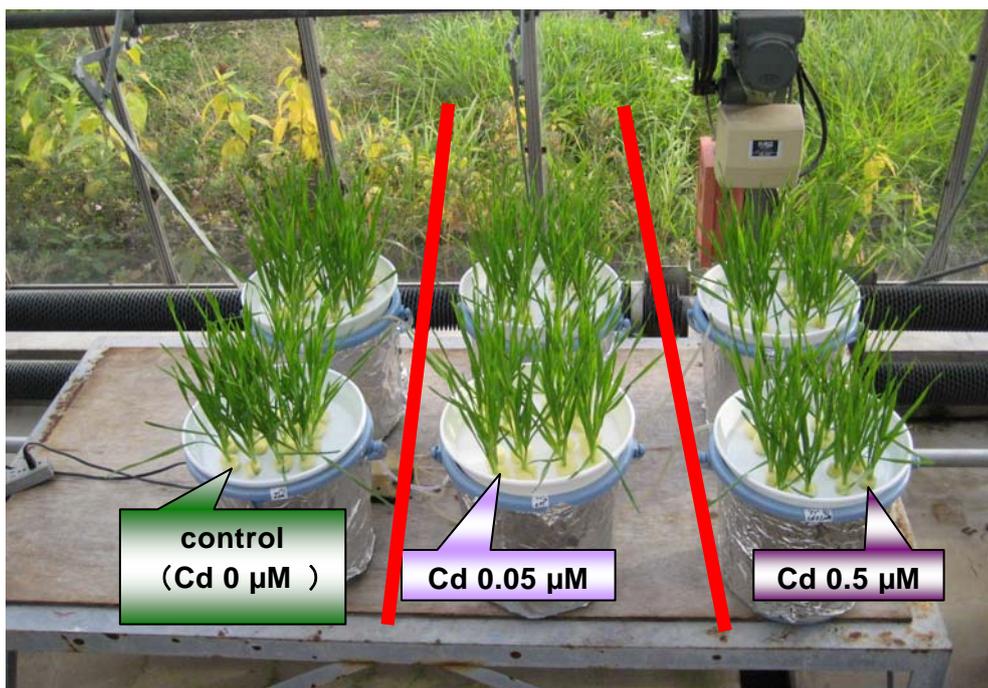


図7 カドミウム処理したオオムギの生育の様子

乾物重において、植物体の地上部・根部ともに処理区間での有意な差はなかった(図6)。また、0.5 μMまでの濃度範囲においては、Cd害による視覚的な症状は見られなかった(図7)。このことは、自然環境においても、通常濃度の土壌溶液中ではCdの視覚的障害は観察されにくいことを示していた。

フレーム式原子吸光度法で測定したCd含量は、地上部・根部ともに対照区と比べてCd 0.5 μM区で著しく増加した(図8)。また、根部のCd含量は、地上部と比べて約15倍も高かった。この結果は、植物体のCd濃度の上昇が起きてても、この程度であれば、障害が見られないことを示していた。この結果は、野菜など食料においてCdの汚染が気づかれにくく、また、Cdが食物連鎖に入りやすく、人体に取り込まれやすいことを示唆した。

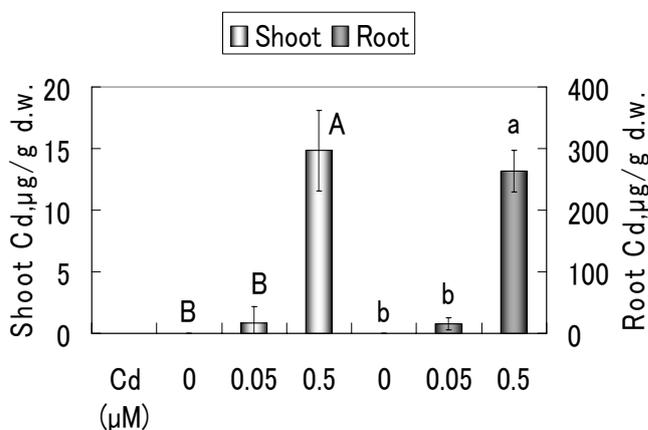


図8 Cd 過剰条件下で生育した植物のCd含量

3-2-1 Cd 処理したオオムギの硝酸分解液のフレイム原子吸光光度法と PIXE によるデータの比較

図 9 から 13 に Cd 処理したオオムギ地上部、又は、根部の硝酸分解液の PIXE とフレイム原子吸光光度計の測定値の比較を示した。測定は Cd、Fe、Cu、Zn、Mn について行った。その結果、PIXE とフレイムの測定値におけるグラフ上の傾向はほぼ一致することが示された。

元素別の測定結果について、Fe に関しては、PIXE とフレイム原子吸光光度法において、ほぼ同量の測定値であった。また、Zn については PIXE のほうが大きめに測定されることがわかった。根部の Cu に関しては、それぞれ約 3 倍、6 倍も値が異なり、PIXE の方が低く定量された。よって、Fe を測定する場合、PIXE とフレイム式原子吸光法の結果は比較できるが、Zn や Cu については測定法が異なる場合には直接比較することを避けるべきであることが示唆された。

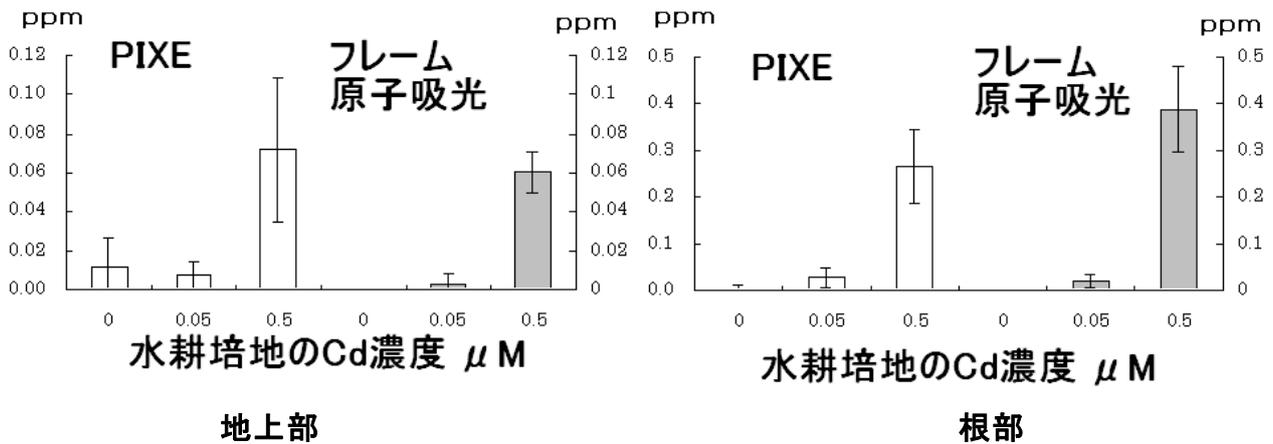


図 9 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Cd 濃度

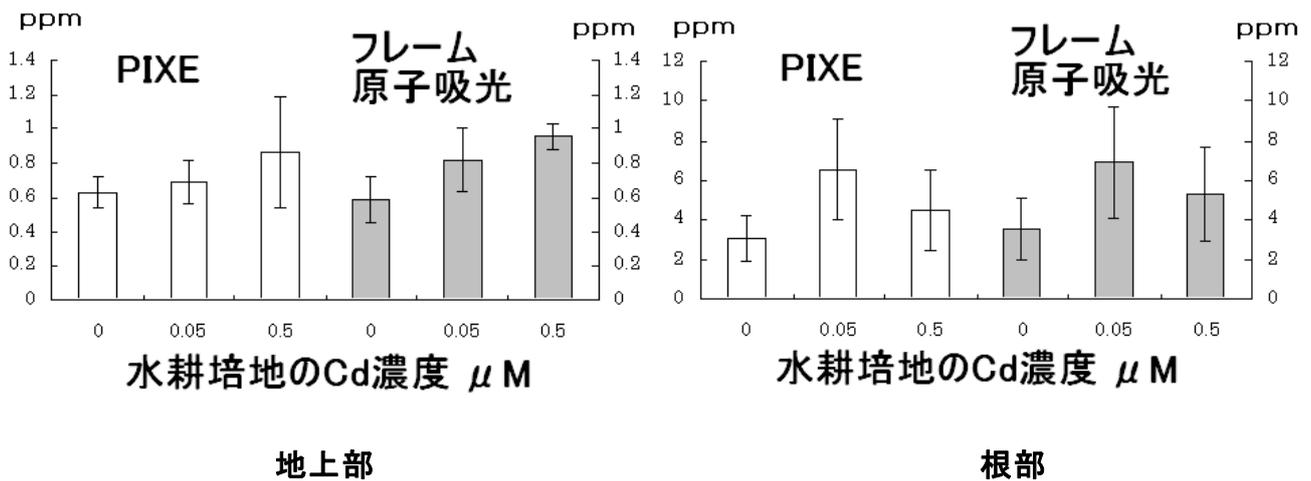


図 10 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Fe 濃度

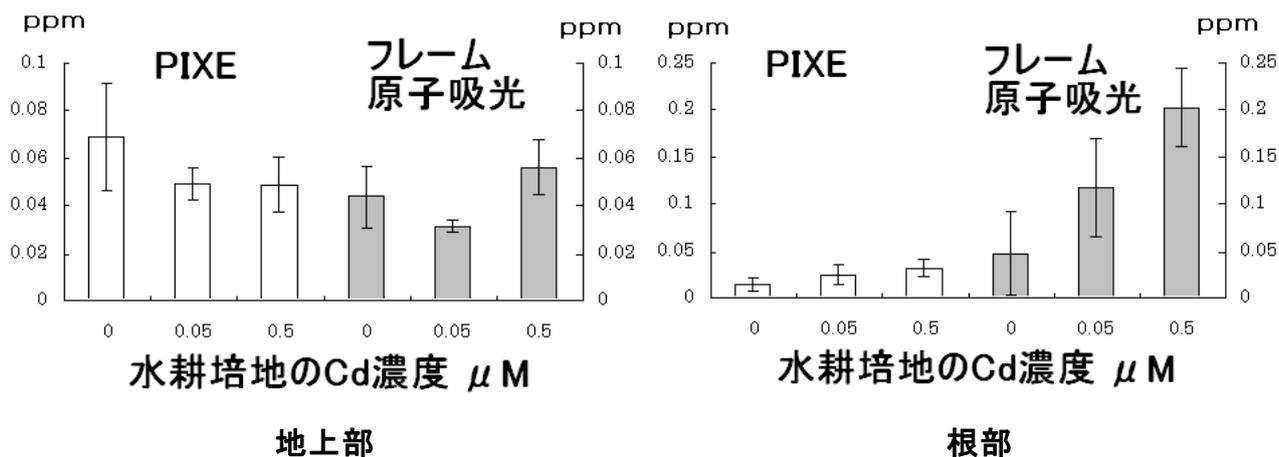


図 11 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Cu 濃度

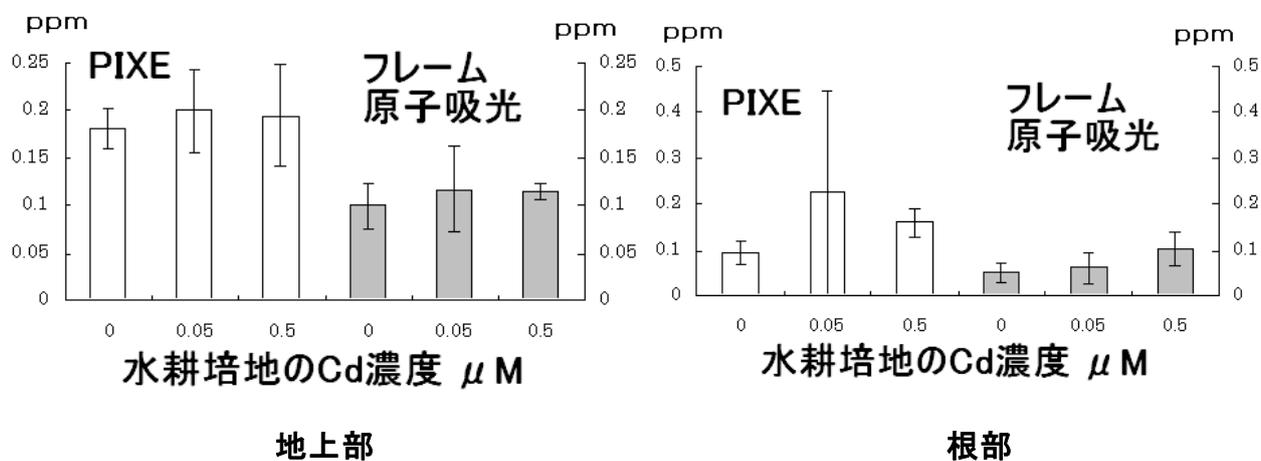


図 12 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Zn 濃度

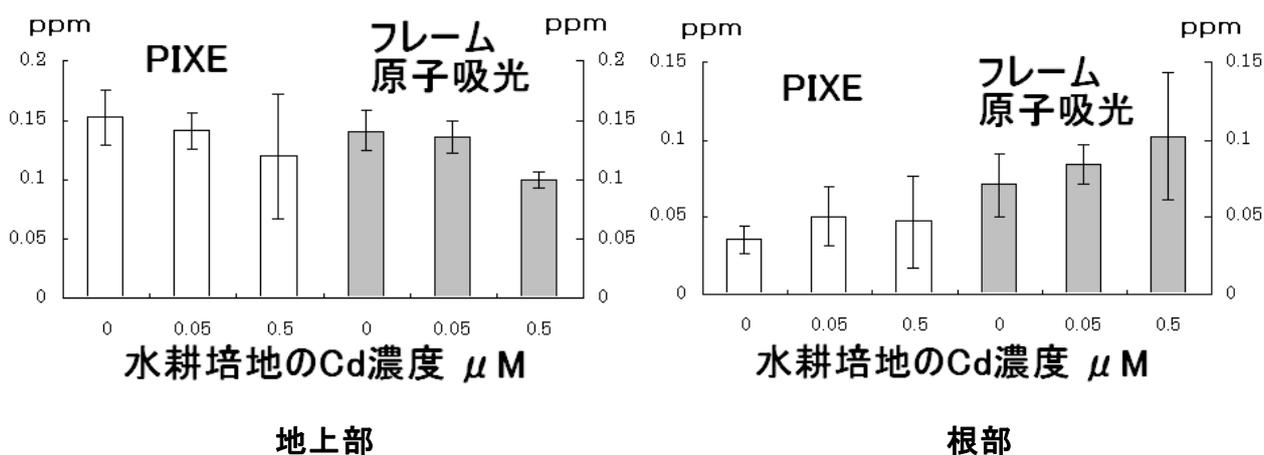


図 13 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Mn 濃度

謝辞

本研究を行うにあたり、PIXEで測定をしていただきました岩手医科大学サイクロトロンセンター世良耕一郎先生に感謝申し上げます。

文献

1. 山崎耕宇ら (1993) 植物栄養・肥料学 朝倉書店
2. Liu J, Reid RJ, and Smith FA (2000) The Mechanism of cobalt toxicity in mung beans. *Physiologia Plantarum* 110: 104-110
3. 植物の微量元素含量に関するデータ収録: 独立行政法人 農業環境技術研究所 p 72
4. Albert P.V CHAPTER 10 Cobalt (1966)
Diagnostic Criteria for Plants And Soil (H.D. Chapman ed.)
5. Sandalio LM, Dalurzo HC, Gomez M, Romero-Puertas MC, del Rio LA (2001) Cadmium-induced changes in growth and oxidative metabolism of pea plants. *J Exp Bot* 52: 2115-2126
6. Wu FB, Zhang GP, Dominy P (2003) Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity. *Environ Exp Bot* 50: 67-78
7. Wu FB, Chen F, Wei K, Zhang GP (2004) Effect of cadmium on free amino acid, glutathione and ascorbic acid concentrations in two barley genotypes (*Hordeum vulgare* L) differing in cadmium tolerance. *Chemosphere* 57: 447-454
8. Lima AIG, Pereira SIA, de Almeida Paula Figueira EM, Caldeira GCN, de Matos Caldera HDQ (2006) Cadmium detoxification in roots of *Pisum sativum* seedlings: relationship between toxicity levels, thiol pool alterations and growth. *Environ Exp Bot* 55: 149-162
9. Chen F, Dong J, Wang F, Wu FB, Zhang GP, Li GM, Chen ZF, Chen J, Wei K (2007) Identification of barley genotypes with low grain Cd accumulation and its interaction with four microelements. *Chemosphere* 67: 2082-2088
10. 岩波理化学事典第5版 pp. 258
11. Chaney RL (1983b) Potential effects of waste constituents on the food chain. In *Land Treatment of Hazardous Wastes*. Eds JE Parr, PB Marsh and JM Kla, pp. 152-240. Noyes Data Corp., Park Ridge.
12. Jackson AP, Alloway BJ (1992) The transfer of Cd from agricultural soils to the human food chain. In *Biochemistry of Trace Metals*. Ed. DC Adriano, pp. 109-152. Lewis Publishers, New York.
13. Friberg L, Elinder CG, Kjellström T, Nordberg GF (1985) Cadmium and Health. A Toxicological and Epidemiological Appraisal Volume I and II. CRC Press, Boca Raton.
14. Järup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, vahter M (1998) Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health* 24: 1-51
15. Harren T, Feller U (1997) Transport of cadmium via xylem and phloem in maturing wheat shoots: comparison with the translocation of zinc, strontium, and rubidium. *Ann Bot* 80: 623-628
16. Deckert J (2005) Cadmium toxicity in plants: is there any analogy to its carcinogenic effect in mammalian cells? *Biometals* 18: 475-481
17. 山崎耕宇、杉山達夫、高橋英一、茅野充男、但野利秋、麻生昇平 (1993) 植物栄養・肥料学 朝倉書店
18. Chesworth W (1991) Geochemistry of micronutrients. In: Mortvedt JJ, Cox FR, Shuman LM, Welch RM (eds) *Micronutrients in agriculture*, 2nd Ed., Soil Science Society of America, Inc, Madison, WI, USA, pp 1-30
19. Clemens S (2006) Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants.

Biochimie 88: 1707-1719

20. Garnier L, Simon-Plass F, Thuleau P, Agnel JP, Blein JP, Ranjeva R, Montillet JL (2006) Cadmium affects tobacco cells by a series of three waves of reactive oxygen species that contribute to cytotoxicity. *Plant Cell Environ* 29: 1956-1969
21. Choudhary M, Bailey LD, Grant CA, Leisle D (1995) Effect of Zn on the concentration of Cd and Zn in plant tissue of two durum wheat lines. *Can J Plant Sci* 75: 445-448
22. Oriver DP, Hannam R, Tiller KG, Wilhelm NS, Merry RH, Cozens GD (1994) Heavy metals in the environment: the effects of zinc fertilization on cadmium concentration in wheat grain. *J Environ Qual* 23: 705-711
23. McKenna IM, Chaney RL, Williams FM (1993) The effect of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. *Environ Pollut* 79: 113-120
24. Hart JJ, Welch RM, Norvell WA, Kochian LV (2002) Transport interactions between cadmium and zinc in roots of bread and durum wheat seedlings. *Physiol Plant* 116: 73-78
25. White MC, Chaney RL (1980) Zinc, cadmium, and manganese uptake by soybean from two zinc and cadmium amended coastal plain soils. *Soil Sci Soc Am J* 44: 308-313
26. Root RA, Miller RJ, Koeppe DE (1975) Uptake of cadmium its toxicity, and effect on the iron ratio in hydroponically growth corn. *J Environ Qual* 4:473-476
27. Cataldo DA, Garland TR, Wildung RE (1983) Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. *Plant Physiol* 73: 844-848
28. Jalil A, Selles F, Clarke JM (1994) Effect of cadmium on growth and the uptake of cadmium and other elements by durum wheat. *J Plant Nutrition* 17: 1839-1858
29. 工藤一晃 (2007) 岩手大学大学院農学研究科博士論文
30. Kashem MA, Singh BR (2002) The effect of fertilizer additions on the solubility and plant-availability of Cd, Ni, and Zn in soil. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 62: 287-296
31. 奥田 東、高橋英一 (1962) 日本土壤肥料学会誌、33 卷、1-8

Concentration of elements in tissues of cobalt- or cadmium-stressed barley seedlings grown hydroponically

S. Kawai¹, Y. Yamaguchi¹, K. Mabune¹ and J. Itoh²

¹Faculty of Agriculture, Iwate University
3-18-8 Ueda Morioka 020-8550 Japan

²Takizawa Laboratory, Japan Radioisotope Association
348-1 Tomegamori Takizawa 020-0173 Japan

Abstract

The physiological effect of toxicity of Co and Cd on the barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Minorimugi) grown hydroponically in green house or phytotron was investigated. Growth of the plants was not affected under the Co concentration between 0 and 1 μM . In the 10 μM Co treatment, however, Fe chlorosis and necrosis was observed in shoots and growth of the plant was retarded clearly. Elongation of lateral roots was severely repressed and growth of the roots was totally repressed, resulting in significant reduction of dry weight. Concentration of Co in plant tissues was elevated in 10 μM Co treatment comparing with the other treatments (0 and 1 μM Co). Concentration of Co of shoots was fairly low as compared with that of roots. Cobalt was accumulated in roots.

In Fe-deficient barley, Fe concentration of the shoots ($\mu\text{mol g}^{-1}$ DW) decreased significantly in 10 μM Co treatment. But Fe concentration of roots was increased significantly. The results suggested that accumulation in roots and translocation to the shoots of Fe was repressed by Co toxicity.

The data of Co or Fe concentration of the solution obtained Flame Atomic Absorption (Flame AA) or PIXE was compared. Sensitivity of PIXE was higher and about twice than that of Flame AA. Result of statistical analysis performed on the data of Flame AA and PIXE was consistent. Iron concentration in all solution applied was a little higher in PIXE measurement than Flame AA.

Iron, Mn, Zn, Cu concentrations in xylem sap of barley grown under +Fe condition were measured by Flameless Atomic Absorption (Flameless AA) or PIXE and the data were compared each other. Fe : Except for on sample. In all of the solution, the data of Flameless AA was 1.5-2 times higher than that of PIXE. Mn: Data of Flame AA was about twice of that of PIXE. Zn: Data of Flameless was 2-5 times larger than that of PIXE. Cu: There was no consistent tendency between the data of two methods. Ratio of the data between two methods seemed to fluctuate from 0.5 – 2. Generally, PIXE gave larger values. The reason needs to be considered in the future.

There were no visual symptoms induced by Cd toxicity up to 0.5 μM Cd of the concentration of the medium. It indicated that visual symptoms of Cd toxicity may not be observed under the solutions of usual Cd-contaminated soil in nature. In dry weight of the shoots and roots, there was no significant difference among the treatment with varied concentration of Cd. Cadmium concentration of shoots and roots increased clearly at Cd 0.5 μM treatment. Cadmium concentration of roots was 15 times higher than that of shoots. The result showed that elevation of Cd concentration in this extent does not induce symptoms in plants. It was suggested that recognition of Cd toxicity in foods, such as vegetables, is difficult and that Cd can be easily incorporated into food chain and human body.

The data of the concentration of Fe, Cu, Zn, and Mn in the solution of shoots or roots digested by nitrate was obtained using Flame AA and PIXE. The tendency of the data of Flame AA and PIXE were almost similar. In Fe, the data of Flame AA and PIXE were almost identical. In Zn, the data of Zn was a little larger than that of Flame AA. In the case of Cu in roots, the data of PIXE was 3-6 folds lower than that of Flame AA. Therefore, the data of Fe may be comparable between Flame AA and PIXE. It is suggested, however, that the values between two methods should not be compared in the data of Zn or Cu.