

原著論文 (通常論文)

多変量解析によるヒ素超蓄積植物および非蓄積植物における
ヒ素蓄積に伴う必須元素挙動の解析

Analysis of Essential Elements Behavior Accompanying with Arsenic Accumulation in Arsenic
Hyper Accumulator and Non-Accumulating Plants by Multivariate Analysis

菅原 一輝^{1*}, 北島 信行², 鈴木 誠一¹
KAZUKI SUGAWARA, NOBUYUKI KITAJIMA and SEIICHI SUZUKI

¹ 成蹊大学理工学部 〒180-8633 東京都武蔵野市吉祥寺北町 3-3-1

² (株) フジタ 〒243-0125 神奈川県厚木市小野 2025-1

* TEL: 0422-37-3733 FAX: 0422-37-3871

* E-mail: k-sugawara@st.seikei.ac.jp

¹ Faculty of Science and Technology, Seikei University, 3-3-1 Kichijoji-kitamachi, Musashino, Tokyo 180-8633, Japan

² Fujita Co., 2025-1 Ono, Atsugi, Kanagawa 243-0125, Japan

(原稿受付 2018年3月19日 / 原稿受理 2018年4月9日)

In the present study, we investigated the behavior of essential elements in arsenic (As) hyper accumulating plants, *Pteris vittata*, and non As accumulating plants, *Nephrolepis exaltata*, to clarify the As tolerance and accumulation mechanism by multivariate analysis of the essential elements. As a result of exposing to arsenate for a week, a significant accumulation of arsenic was confirmed 1684 mg/kg at As 10 mg/L exposure in *P. vittata*. On the other hand, the accumulation of As was not observed in *N. exaltata*. Regarding with the behavior of essential elements in *P. vittata*, it was confirmed that the P, K and Mo concentrations increased with the increase of As concentration. On the other hand, the concentration of B gradually decreased. In case of *N. exaltata*, Mg, P, Mo, Mn and Zn were increased, while Ca, K and B were decreased depending on the increase of As concentration. In the results of multivariate analysis, the influence of As was inferred from the second principal component. Cluster analysis showed that As and B tended to be distant from each other, suggesting that the destruction of extracellular structure occurred by replacing B, a constituent of cell wall, with As toxicity.

キーワード: モエジマシダ, ヒ素, 元素挙動, 多変量解析

Key words: *P. vittata*, Arsenic, Element behavior, Multivariate analysis

1. 緒 言

ヒ素 (As) は発癌性物質として知られ, 多くのヒ素化合物は生物に対して急性・慢性を問わず有害な影響を与える。東南アジア地域, 特にインド・パングラディシュ・ネパール・ベトナムなどの国々では, 自然由来のヒ素により汚染された地下水によって数千万人規模の健康被害が危惧されている¹⁻³⁾。このようなヒ素による土壌・水質汚染に対して, 土壌では掘削除去, 水ではフィルター処理や鉄沈殿凝集法などによるヒ素の除去が一般的に用いられている⁴⁾。しかしながら, どの手法においても実施コストが高く, 処理を続けることによるランニングコストや環境負荷の増大が問題となり, 持続的な処理が難しいのが現状である。そのため, 低レベルでかつ広範囲の汚染にも対応できる低コスト・低環境負荷の除染技術の開発が世界的に求められている。

特定の重金属を高濃度で蓄積する植物を用いた環境浄

化手法であるファイトレメディエーション (Phytoremediation) は掘削や客土などの手法に比べて低コストであり, 浄化に伴う環境負荷も小さいことから, 前述の広範囲に渡る低濃度の汚染に効率的に適用可能な手法として, その実用化が期待されている⁵⁾。ヒ素の超蓄積植物としては2001年に発見されたモエジマシダ (*Pteris vittata* L.) の実用化に関する研究が進められている。ヒ素は植物に対しても毒性を示すため, ヒ素存在環境下では通常の植物の多くは枯れてしまう。その一方で, モエジマシダは地上部に 22,360 mg/kg という超高濃度のヒ素を蓄積可能であり, さらに微量のヒ素存在下では生育が促進されることが報告されている⁶⁾。モエジマシダ内のヒ素に対する無毒化機構として, 低分子チオールとの複合体形成⁷⁾ や液胞への隔離⁸⁾ など様々な説が提唱されているものの, 全体としてそのメカニズムは十分明らかにされていない。

植物が何らかのストレスに曝された時に, しばしば葉

の白化（クロロシス）や黄化などの現象が確認される⁹⁾。これらは、栄養素の枯渇や病原菌による体組織へのダメージが原因として考えられ、葉の枯れと共にその部位に存在する栄養素が他の部位へ転流することが知られている⁹⁾。そのため、植物体内における元素挙動を把握することで、植物の生理学的変化を検知することが可能であると考えられる。

モエジマシダにおいて、ヒ素の吸収・蓄積による植物生理学的変化に関する研究は十分進んでいない。モエジマシダ内におけるヒ素の影響が明らかになることで、モエジマシダを用いたヒ素汚染環境に対するファイトレメディエーションの広い実用化に向けて、植物機能の面で重要な知見が得られることが期待できる。従って、本研究ではヒ素超蓄積植物であるモエジマシダと非ヒ素蓄積植物であるセイヨウタマシダ (*Nephrolepis exaltata*) をヒ素に曝露した際の植物体内の必須元素の挙動を調査し、ヒ素がヒ素蓄積性・非蓄積性植物に与える生理学的変化を必須元素の多変量解析により検討・比較することで、ヒ素超蓄積植物が持つヒ素耐性および蓄積メカニズムを明らかにすることを目的とした。

2. 材料および方法

2.1 ヒ素曝露試験

実験に供したモエジマシダは事前に採取した胞子から栽培を行った。また、セイヨウタマシダは種苗会社から購入したものを実験に供した。どちらのシダも羽片の全長が15~20 cm程度になるまで栽培を行った。実験前の前培養として、 $\times 1/5$ のHoagland培養液で昼夜25°C、明期/暗期=16 h/8 h、光量5000 luxの環境下で2週間栽培を行った。前培養終了後にヒ酸 ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 和光純薬株式会社) を含まないコントロール、およびヒ酸を終濃度5 mg/L、10 mg/Lになるように加えた $\times 1/5$ のHoagland培養液200 mLに移植し、前培養時と同じ条件で7日間栽培を行った（各条件n=5）。栽培試験終了後に、植物を水道水とmilli Q水で十分洗浄し、地上部と根に分けて60°Cで2日間乾燥させた。乾燥した植物体はラボミル（大阪ケミカル）によって粉碎し、硝酸を加えて130°Cで2時間湿式灰化を行った。分解試料は0.45 μm メンブレンフィルターでろ過後、ICP-AES (iCAP 7400, Thermo Fisher Scientific Inc.) によってヒ素および必須元素11種類 (B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mo, Mn, P, S, Zn) の濃度測定を行った¹⁰⁾。

2.2 測定データの多変量解析

得られた測定データにおける各元素間の関係性を明らかにするために、主成分分析およびクラスター分析を実施した。主成分分析¹¹⁾とは、高次元データに隠れたパターンを見出すためによく用いられる最も代表的な多変量解析手法の一種である。数理的には、高次元データを直交変換により、変数間同士に相関のない合成変数（主成分と呼ばれる）を作り出す方法である。分散の大きさ（寄与率）の小さい合成変数を無視することで、高次元データから、重要な低次元を抽出することが可能となる。本研究では、モエジマシダおよびセイヨウタマシダに存在するヒ素および必須元素11種類 (B, Ca, Cu, Fe,

K, Mg, Mo, Mn, P, S, Zn) の12元素を対象として主成分分析を行った。クラスター分析¹²⁾とは、異なる性質のものが混ざり合っている集団（対象）の中から互いに似たものを集めて集団（クラスター）を作り、対象を分類する多変量解析手法の一種である。本研究では、主成分分析と同様にヒ素及び必須元素11種の計12元素を対象とした。植物体内に存在する元素のクラスターリングをするために、階層的手法のウォード法を用いてクラスターの作成を行った。上記の解析には統計解析ソフト“R” (ver. 3.4.3) を用い、ヒ素が主に蓄積されているシダ地上部の分析データを対象として解析を実施した。

3. 結果と考察

3.1 モエジマシダおよびセイヨウタマシダ内のヒ素と必須元素濃度

コントロール、ヒ素5 mg/L曝露、ヒ素10 mg/L曝露の各条件におけるモエジマシダおよびセイヨウタマシダ中のヒ素および必須元素濃度をFig. 1に示す。モエジマシダにおいて、ヒ素はコントロールでは地上部に存在していなかったが、5 mg/L曝露条件では 958 ± 348 mg/kg、10 mg/L曝露条件では 1684 ± 389 mg/kgと非常に高濃度で蓄積されていた (Fig. 1(a))。さらに、添加した全ヒ素量に対するモエジマシダが吸い上げたヒ素量の割合は、5 mg/L曝露条件で平均97%（添加ヒ素総量1 mgに対し、地上部0.89 mg、地下部0.08 mg）、10 mg/L曝露条件で平均89%（添加ヒ素総量2 mgに対し、地上部1.54 mg、地下部0.24 mg）と、培養液に添加した大部分のヒ素がモエジマシダに吸収されたことが確認された。一方で、セイヨウタマシダではヒ素が含まれていないコントロールではモエジマシダと同じくヒ素は存在しないものの、ヒ素5 mg/L曝露条件では 13 ± 4 mg/kg、ヒ素10 mg/L曝露条件では 36 ± 8 mg/kgと曝露するヒ素濃度が上昇するに従ってセイヨウタマシダ中のヒ素濃度も上昇するものの、モエジマシダに比べヒ素が蓄積されていないことが確認された (Fig. 1(b))。

また、各シダの外見的な変化として、モエジマシダ羽片はコントロールでは何も外見上の変化は見られないのに対し、ヒ素5 mg/L曝露条件では小羽片の周辺部が若干黄色く変色しており、ヒ素10 mg/L曝露条件では完全に茶色く変色した様子が確認された (Fig. 2(a))。それに対して、セイヨウタマシダではモエジマシダのような外周部の枯れは観察されなかった (Fig. 2(b))。この時のモエジマシダおよびセイヨウタマシダのバイオマス量を比較すると、モエジマシダでは各ヒ素曝露条件で変動がなかったのに対し、セイヨウタマシダではヒ素曝露濃度が上昇するにつれてバイオマス量が減少していることが明らかになった (Fig. 3)。従って、1週間の栽培期間においてヒ素非蓄積性のセイヨウタマシダは曝露したヒ素の影響を株全体で強く受けたと考えられる。その一方でモエジマシダでは、部分的な状態変化は観察されたものの、株全体としてヒ素によるバイオマスの顕著な減少などの影響は確認されなかったことから、セイヨウタマシダと比較してヒ素耐性の差が現れたと考えられる。

次に、モエジマシダ地上部の必須元素の中では、リン、カリウム、モリブデン濃度が、コントロール、ヒ素

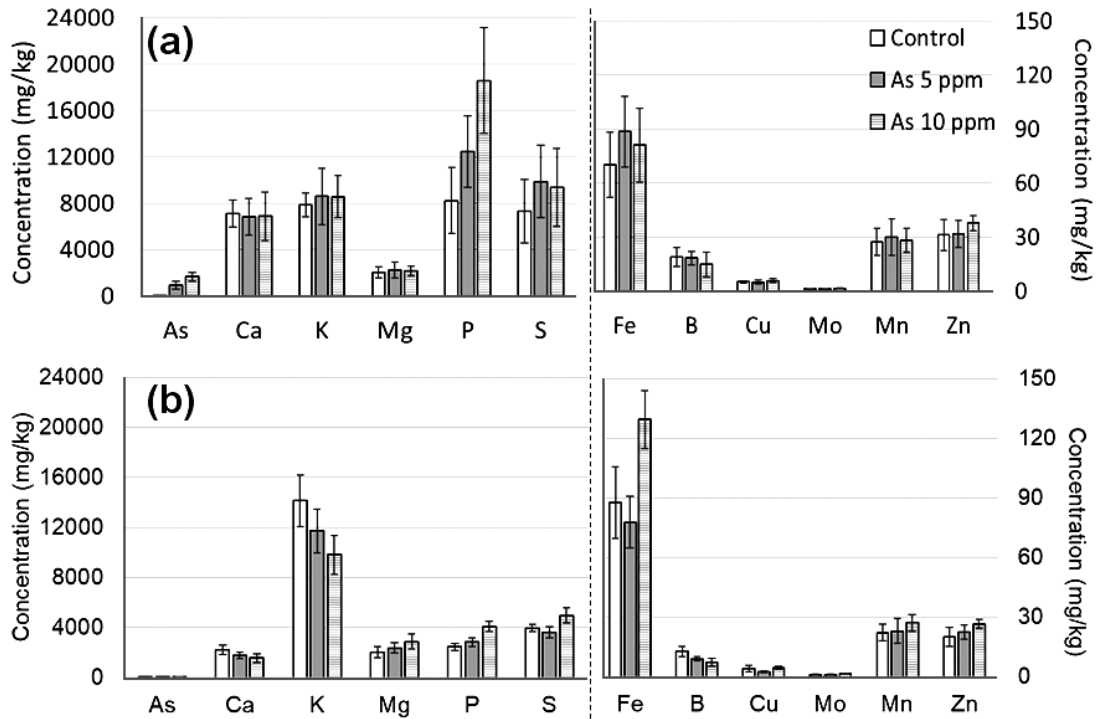


Fig. 1. Concentration of As and essential elements in the aerial parts of (a) *P. vittata* and (b) *N. exaltata*. The data represent the means of five independent measurements. Error bar means \pm SD.

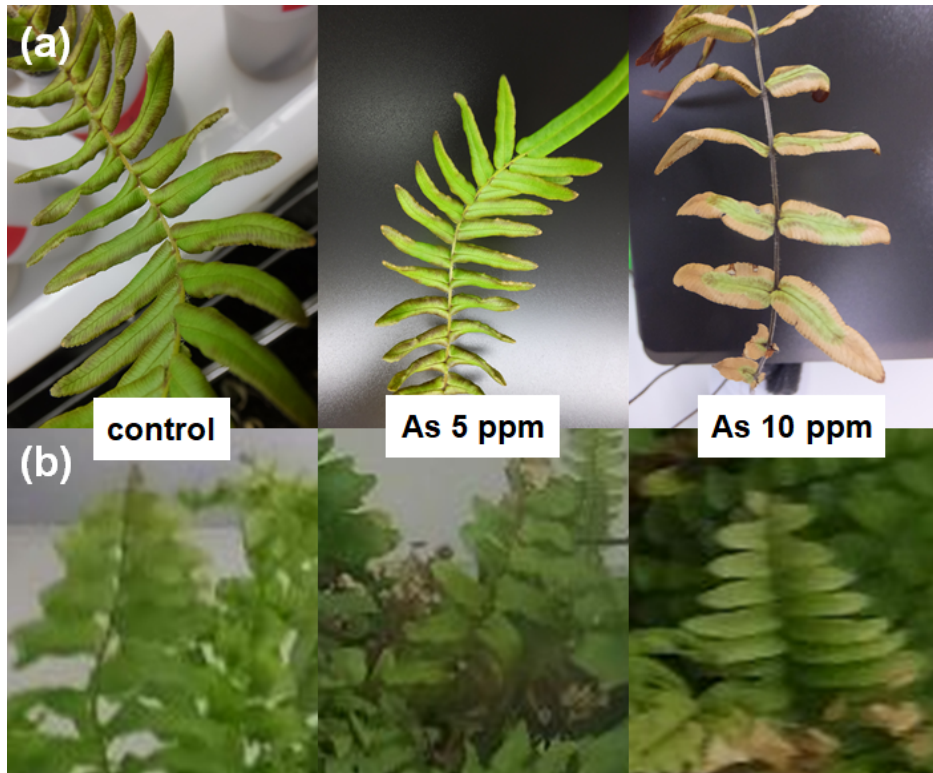


Fig. 2. Changes in appearance under various conditions of (a) *P. vittata* and (b) *N. exaltata*.

5 mg/L 曝露, 10 mg/L 曝露条件となるにつれて順に上昇している様子が確認された。また, ヒ素 5 mg/L 曝露で濃度が急上昇した元素 (硫黄・鉄・マンガン) や 10 mg/L 曝露時に濃度が急上昇した元素 (亜鉛) も確認された。一方で, ホウ素は前述の 3 元素とは異なり,

徐々に濃度は減少していった (Fig. 1(a))。一方で, セイヨウタマシダでは, マグネシウム, リン, モリブデン, マンガン, 亜鉛濃度が, コントロール, ヒ素 5 mg/L, 10 mg/L 条件となるにつれ順に上昇している様子が確認された。さらに, 硫黄, 鉄, 銅に関してはヒ素

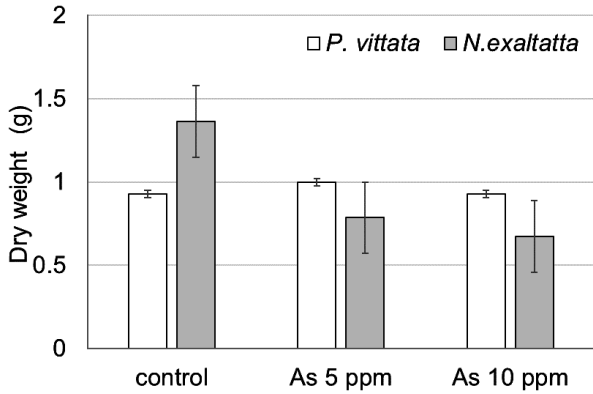


Fig. 3. Changes in biomass under various conditions of *P. vittata* and *N. exaltata*.

The data represent the means of five independent measurements. Error bar means \pm SD.

10 mg/L 条件で急激な濃度上昇が見られた。それに対して、カルシウム、カリウム、ホウ素は曝露したヒ素濃度が上昇するにつれ濃度が減少した (Fig. 1(b))。

モエジマシダ中のヒ素濃度と必須元素濃度をプロットすると、前述の4元素(リン、カリウム、ホウ素、モリブデン)との間に強い相関関係があることが明らかになった (Fig. 4(a))。セイヨウタマシダ中のヒ素濃度と必須元素濃度のプロットにおいても、前述の8元素(マグネシウム、リン、モリブデン、マンガン、亜鉛、カルシウム、カリウム、ホウ素)と強い相関関係があることが示された (Fig. 4(b))。相関関係については、一般的に0.7を越えた場合に強い相関があると判断される。特に、モエジマシダ・セイヨウタマシダどちらの場合においても、ヒ素とリン濃度間には特に強い正の相関関係 ($R^2=0.96, 0.975$) が、ヒ素とホウ素濃度には強い負の相

関関係 ($R^2=0.80, 0.89$) が示された。以上より、ヒ素の吸収・蓄積に伴って、モエジマシダおよびセイヨウタマシダ体内に含まれる必須元素濃度はダイナミックに変化し、特にリンやホウ素を始めとする数種類の元素の濃度は蓄積されたヒ素濃度と強い相関関係を示すことが明らかになった。さらに、セイヨウタマシダに比べモエジマシダではヒ素の蓄積が起きても必須元素の濃度の増減が抑えられており、ヒ素による影響を制限する機構があると推測された。

実験で添加したヒ酸はリン酸と化学構造および性質が類似していることから、植物におけるヒ素の吸収経路として、リンのトランスポーターを経由することが知られている¹³⁾。従って、ヒ素はリンと同じ経路により輸送されることで、強い相関関係を示したと考えられる。一方で、モエジマシダ、セイヨウタマシダどちらの場合でも強い負の相関関係を示したホウ素とヒ素の関係性については、未だ報告がなされていない。ホウ素の植物内での役割として、細胞壁内の架橋構造に存在し、細胞壁構造の安定化に寄与していることが報告されている¹⁴⁾。そのため、ホウ素濃度の低下は曝露するヒ素濃度上昇に伴うモエジマシダ小羽片外周部の褐変 (Fig. 2(a)) やセイヨウタマシダの枯れによるバイオマスの減少 (Fig. 3) など、ヒ素が植物体の細胞壁にダメージを与えることによって引き起こされていると考えられる。また、カリウムはモエジマシダにおいてはヒ素と正の相関を示したのに対し、セイヨウタマシダでは強い負の相関を示した。カリウムは一般的に植物の生理的な活性を示す元素として知られており¹⁵⁾、シダの外見やバイオマス量の変化と合わせて考えると、モエジマシダはヒ素耐性を持つため影響が出なかったのに対して、セイヨウタマシダはヒ素の毒性の影響を受けてカリウム濃度が減少したと考えられる。

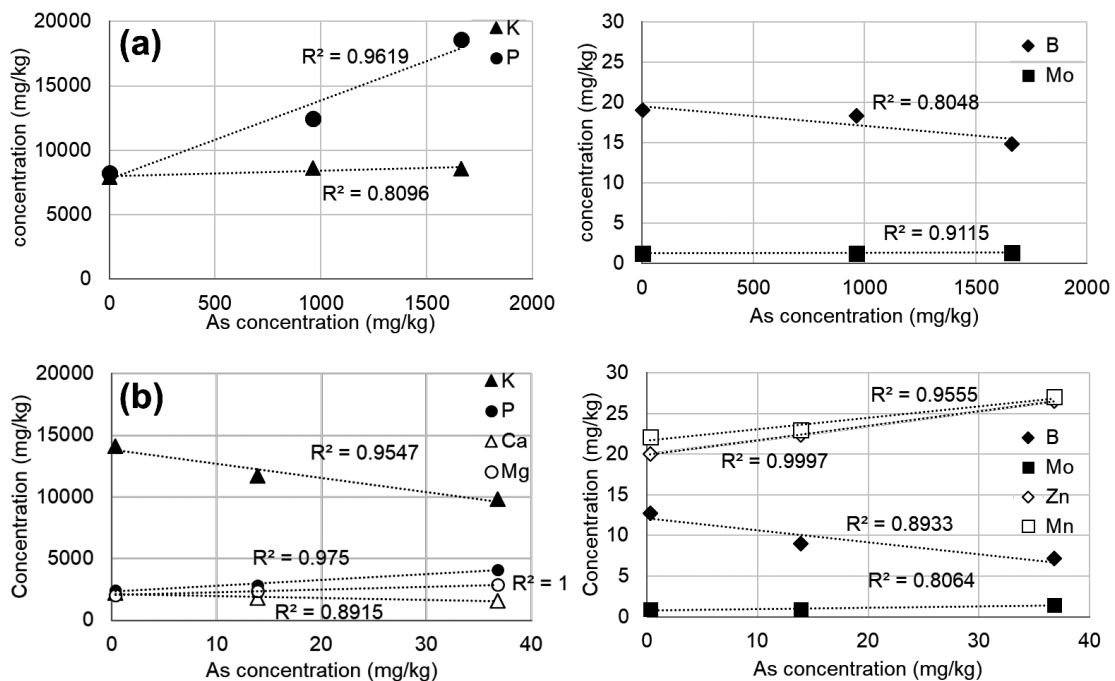


Fig. 4. Comparison of Correlation between Arsenic and Essential Elements in (a) *P. vittata* and (b) *N. exaltata*.

3.2 モエジマシダ・セイヨウタマシダ内のヒ素および必須元素に対する主成分分析

モエジマシダおよびセイヨウタマシダ地上部に含まれる 12 元素 (As, B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mo, Mn, P, S, Zn) の濃度をデータセットとして主成分分析を行った。まず得られた各成分の固有値の寄与率を Fig. 5 に示す。モエジマシダ地上部の第一主成分 (以下主成分を PC (principal component) と示す) PC1 の寄与率は、0.47 であった。また、第二主成分である PC2 以降の寄与率は、PC2 が 0.17, PC3 が 0.11, PC4 が 0.09 であった。PC1 から PC4 まで含めた寄与率の合計値は、0.84 となり、これは 12 元素の挙動の 80% 程度が 4 次元のパラメータを用いることで表現できることを示している。セイヨウタマシダでは PC1 が 0.74, PC2 が 0.15, PC3 が 0.06, PC4 が 0.03 であり、PC4 まで含めた寄与率の合計値は、0.98 となった。

モエジマシダの PC1 から PC4 までの各種元素の固有ベクトルを Fig. 6 に示す。それぞれの主成分における特徴的な固有ベクトル (± 0.2 を基準) として、PC1 では全ての元素が正、PC2 では B, Mg, Mn が正、As, K, P

が負、PC3 では B, K が正、As, Fe, Zn が負、PC4 では Ca, Cu, Fe が正、Mg と Mo が負であった。次に、セイヨウタマシダの PC1 から PC4 までの各種元素の固有ベクトルを Fig. 7 に示す。特徴的な固有ベクトル (± 0.2 を基準) として、PC1 では全ての元素が正、PC2 では Cu, Mn が正、As, B, Ca, Mo が負、PC3 では B, Ca, Cu が正、As, P が負、PC4 では Cu, Mo が正、Ca, Mg, Mn が負であった。

累積寄与率からも分かる通り、モエジマシダは PC1 から PC4 までの累積寄与率が 0.84 であるのに対し、セイヨウタマシダでは PC1 と PC2 のみで 0.89 となる。この説明として、モエジマシダはヒ素の吸収に対して複数の反応機構を有しているため複数の機構が並列に機能していると思われるのに対し、セイヨウタマシダはヒ素に対する耐性機構を持たないため、栄養素の吸収とヒ素吸収・蓄積によるダメージが強く特徴づけられたと示唆される。

3.3 モエジマシダ・セイヨウタマシダ内のヒ素および必須元素に対するクラスター分析

主成分分析と同じく、モエジマシダおよびセイヨウタ

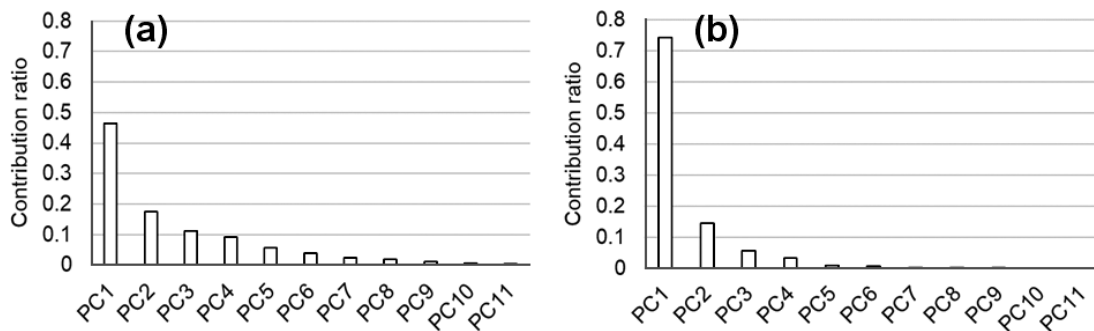


Fig. 5. Principal component contribution ratio in (a) *P. vittata* and (b) *N. exaltata*.

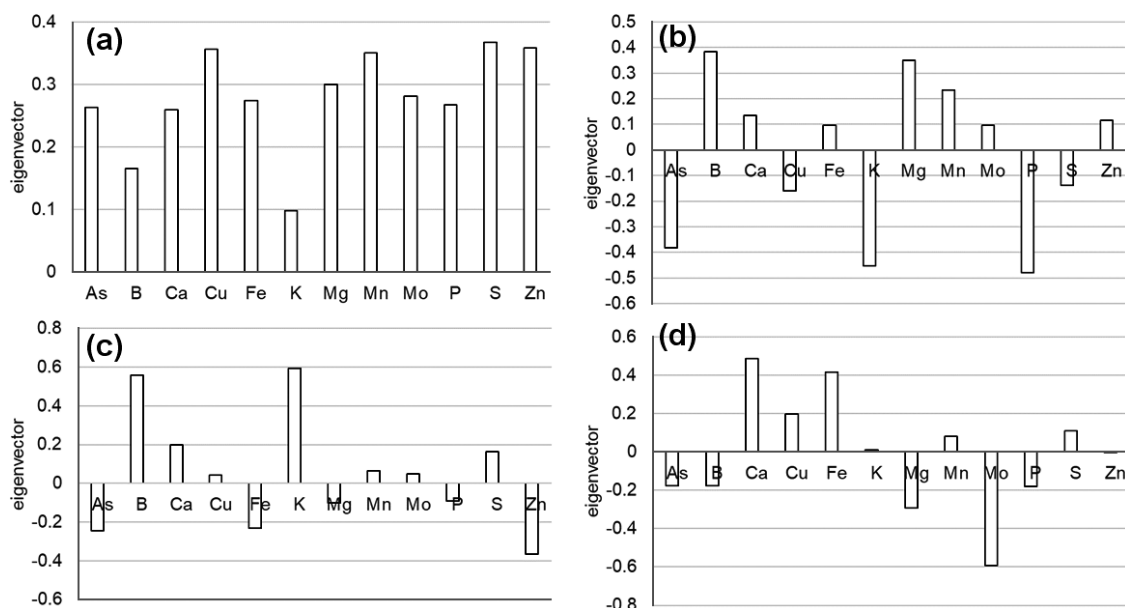


Fig. 6. Factor loading amount of each main component of *P. vittata*. (a): PC1; (b): PC2; (c): PC3; (d): PC4.

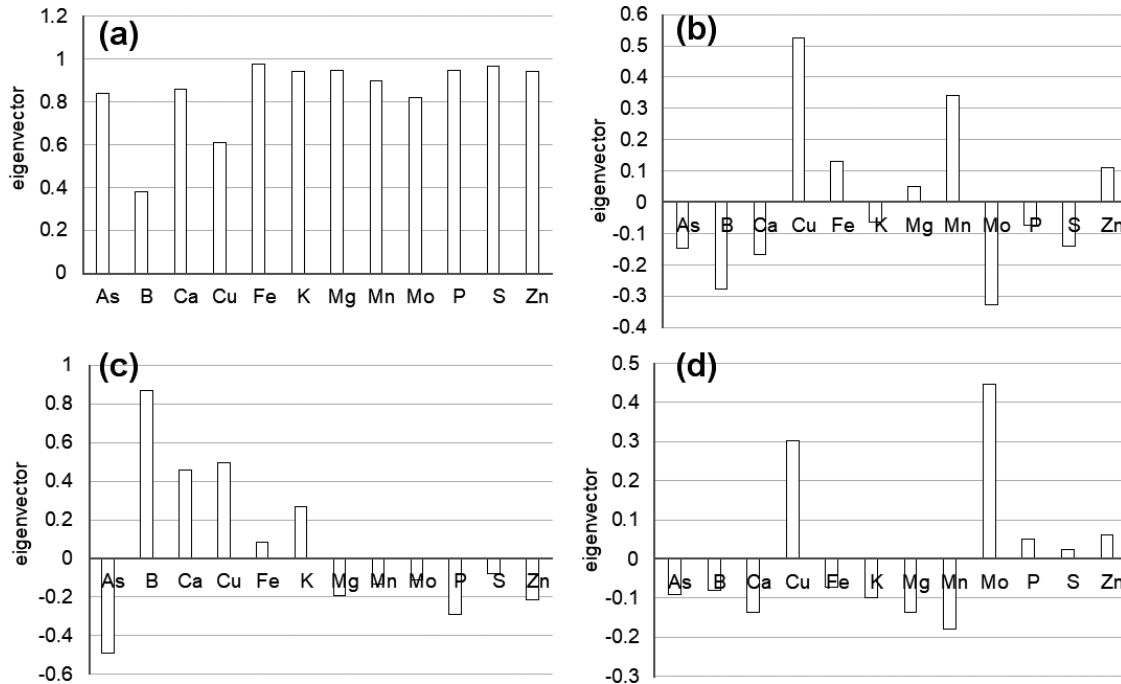


Fig. 7. Factor loading amount of each main component of *N. exaltata*. (a): PC1; (b): PC2; (c): PC3; (d): PC4.

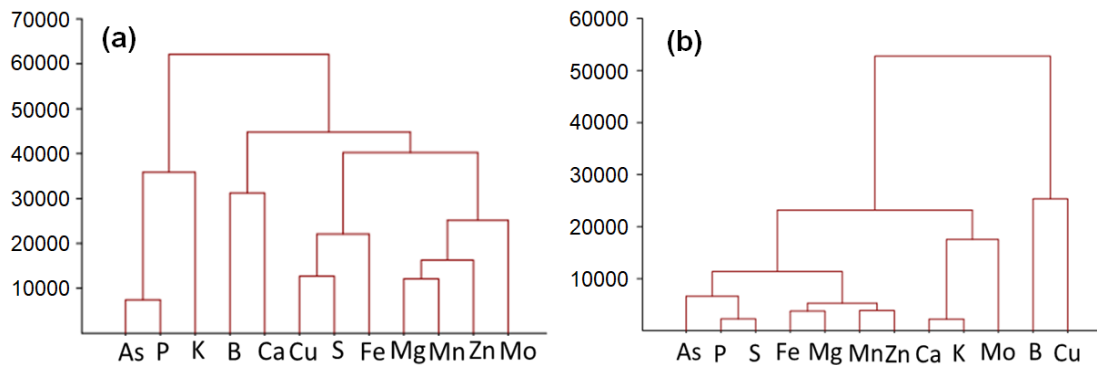


Fig. 8. Cluster analysis of each element in (a) *P. vittata* and (b) *N. exaltata*.

マシダ地上部の12種類の元素を対象としてクラスター解析によるグルーピングを行った。各元素間の関係性をより明瞭にするために行ったクラスター分析の結果をFig. 8に示す。ヒ素を添加しない状態であれば、各元素は存在部位が同じものやその働きが類似しているものとクラスターを形成すると考えられるが、3.1の結果で考察したヒ素とリンの距離がクラスター解析によっても、モエジマシダおよびセイヨウタマシダの両方で非常に近く評価されている。また、ヒ素はモエジマシダではカリウムと、セイヨウタマシダでは硫黄との距離が近いものの、その他の元素との関係性は高くないと評価できる。従って、モエジマシダのリンとカリウムおよびセイヨウタマシダのリンと硫黄は、植物本来の元素間の関係性以上に挙動が類似していると思われる。モエジマシダ、セイヨウタマシダのクラスターはそれぞれ4つのグループに大別可能で、モエジマシダではグループ1 (As, P, K), グループ2 (B, Ca), グループ3 (Cu, S, Fe), グループ4 (Mg, Mn, Zn, Mo)。セイヨウタマシダでは、グループ

5 (As, P, S), グループ6 (Fe, Mg, Mn, Zn), グループ7 (Ca, K, Mo), グループ8 (B, Cu) となった。Fig. 5で示した相関関係のグラフからも明らかなように、モエジマシダ・セイヨウタマシダどちらにおいてもヒ素とリンは関係性が高いことが、クラスター解析によっても裏付けられた。

3.4 ヒ素蓄積に伴う植物生理機構の考察

主成分分析とクラスター分析の結果を合わせて、モエジマシダとセイヨウタマシダのそれぞれの主成分がどのような現象の影響を反映しているかを考察する。モエジマシダではPC1の全ての元素が強い関係性を示していることから、“植物の生長の影響”と分類した。PC2はAs, K, Pなどのヒ素濃度と正の相関関係を示した元素が負となり、BやMg, Mnなどのヒ素濃度と正の相関を取らなかった元素が正となっているため、“ヒ素吸収および蓄積の影響”と分類した。PC3は細胞壁の構成に強く関わるBやCaが正であるため、“細胞新生の影響”と分

類した。PC4は葉緑体の組成に関わるCa, Cu, Feなどの元素が正であることから、“光合成の影響”と分類した。セイヨウタマシダのPC1は全ての元素が正であるため“植物の生長の影響”と分類した。PC2はAsとPが負であるのに対し、B, Ca, Cu, Kが正であることから、“ヒ素吸収・蓄積の影響”と分類した。PC3はCuやMnといった光合成に関わる元素が特徴的であるため“光合成の影響”と分類した。PC4は植物内の酸化還元に関わるCuおよびMoが正であることから“酸化還元の影響”と分類した。

モエジマシダおよびセイヨウタマシダどちらの場合でも、寄与率の高いPC1は植物の生長に関わる恒常的に起こりうる植物生理学的現象が影響したと考えられるものの、PC2以降はヒ素による必須元素への影響が出ていることを示唆する解析結果となった。また、モエジマシダは微量のヒ素に曝露されることで生長が促進されることが報告されており⁶⁾、ヒ素曝露に伴うリンや亜鉛濃度の上昇や主成分のPC3など生長促進に関わるような現象も解析の結果、明らかになった。植物体内におけるヒ素の無毒化機構として液胞への隔離の他に低分子チオールとの複合体の形成が報告されているが⁷⁾、本研究ではモエジマシダ・セイヨウタマシダどちらの場合においてもヒ素と硫黄濃度間での強い相関関係は確認されなかった。その理由として、曝露したヒ素濃度に対して硫黄濃度は単調に上昇するのではなく、濃度の増減が確認されているため、蓄積しているヒ素濃度に応じて生体内での何らかの制御機構が働いていると思われ、全くヒ素の動態と無関係では無いと考えられる。よって、セイヨウタマシダのクラスター分析の結果や、モエジマシダでのヒ素5 mg/L曝露時の硫黄濃度の一時的上昇など、硫黄が関与する低分子チオールによるヒ素の無毒化はヒ素耐性機構のごく一部分だけであることも示唆された。それに加え、近年モエジマシダはヒ素を細胞外に蓄積しているという報告¹⁶⁾もあり、モエジマシダおよびセイヨウタマシダのヒ素蓄積に伴うホウ素濃度の減少は、その現象を支持する結果となっている。すなわち、植物におけるヒ素の毒性は細胞壁構造への作用が大きいものと考えられる。以上から、それぞれの植物に対するヒ素蓄積・無毒化機構を考察すると、ヒ素の超蓄積植物であるモエジマシダの場合、ヒ素は細胞外の細胞壁に主に蓄積されるため、細胞内での無毒化を担う硫黄とヒ素濃度間で強い相関関係が現れないことが考えられる。一方で、非ヒ素蓄積植物であるセイヨウタマシダの場合、モエジマシダと異なりヒ素を細胞外に溜め込む機構を持たないと考えられるため、ヒ素濃度の上昇も限定的であり、かつ細胞内に蓄積されたヒ素の無毒化のために硫黄とヒ素濃度間で一部関係性を示したと考えられる。さらに、硫黄を含む低分子チオールの無毒化機構だけではヒ素の毒性に対処し切れないため、バイオマスの減少を伴うような短期間での羽片の枯れや褐変が発生したものと思われる。モエジマシダを含む植物全般で、植物体内におけるヒ素の化学形態は3価の亜ヒ酸であることが殆どであり¹⁷⁻¹⁹⁾、亜ヒ酸は細胞壁内に存在しているホウ酸と化学構造が類似している。さらに、ホウ酸と亜ヒ酸は中性域では非解離型が大半を占める²⁰⁾。そのため、植物体中において亜ヒ酸は移動性が高い。筆者らが行った別の研究

で、モエジマシダに蓄積された亜ヒ酸は羽片から別の羽片へ恒常的に輸送されることが明らかになっている。この時の羽片間の輸送は大部分が細胞外経路による輸送であると考えられ、モエジマシダは亜ヒ酸の移動性を利用して組織間のダイナミックな輸送および細胞壁への保持による容易な輸送を可能にしていることが示唆されている。よって、モエジマシダの細胞壁へのヒ素の蓄積などのヒ素が細胞壁構造に与える直接的な影響として、化学的性質が類似しているために植物体内の亜ヒ酸が細胞壁中のホウ酸と一部置換するような機構が存在する可能性が示唆された。細胞レベルでのヒ素とホウ素を中心とした各元素の局在性は今後の課題として研究を進める予定であるが、本研究で示されたように分析データに対して多変量解析を適用することで、これまで言及の無かった新たな元素間の関係性がよりクリアになり、本解析手法が植物に特徴的な生理作用を理解するための有用なツールになることが示された。

謝 辞

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金 (K1712834) の助成を受け実施した。

文 献

- 1) Gupta, N., D.K. Khan, and S.C. Santra. 2008. An assessment of heavy metal contamination in vegetables grown in wastewater-irrigated areas of Titagarh, West Bengal, India. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 80: 115–118.
- 2) Chen, Y., C. Wang, and Z. Wang. 2005. Residues and sources identification of persistent organic pollutants in farmland soils irrigated by effluents from biological treatment plants. *Environ. Int.* 31: 778–783.
- 3) Singh, K.P., D. Mohan, S. Sinha, and R. Dalwani. 2004. Impact assessment of treated/untreated wastewater toxicants discharged by sewage treatment plants on health, agricultural, and environmental quality in the wastewater disposal area. *Chemosphere.* 55: 227–255.
- 4) US EPA. 2002. Arsenic treatment technologies for soil, waste and water. Report EPA-542-R-02-004. Washington DC.
- 5) US EPA. 2000. Introduction to Phytoremediation. Report EPA-600-R-99-107. Washington DC.
- 6) Ma, L.Q., K.M. Komar, C. Tu, W.H. Zhang, Y. Cai, and E.D. Kennelley. 2001. A fern that hyperaccumulates arsenic—A hardy, versatile, fast-growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils. *Nature.* 409: 579.
- 7) Moore, K.L., Y. Chen, A.M. van de Meene, L. Hughes, W. Liu, T. Geraki, F. Mosselmans, S.P. McGrath, C. Grovenor, and F.J. Zhao. 2014. Combined NanoSIMS and synchrotron X-ray fluorescence reveal distinct cellular and subcellular distribution patterns of trace elements in rice tissues. *New Phytol.* 201: 104–115.
- 8) Pickering, I.J., L. Gumaelius, H.H. Harris, R.C. Prince, G. Hirsch, J.A. Banks, D.E. Salt, and G.N. George. 2006. Localizing the biochemical transformations of arsenate in a hyperaccumulating fern. *Environ. Sci. Technol.* 40: 5010–5014.
- 9) Taiz, L. and L. Zeiger. 2004. *Plant physiology* 3rd edition. pp. 189–212. Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc., Redwood City.
- 10) Sugawara, K., A. Kobayashi, G. Endo, M. Hatayama, and C. Inoue. 2014. Evaluation of the effectiveness and salt stress of *Pteris vittata* in the remediation of arsenic contamination caused by tsunami sediments. *J. Environ. Sci. Health A.* 49: 1631–1638.

- 11) Yucel, Y. and C. Demir. 2004. Principal component analysis and cluster analysis for the characterization of marvles by capillary electrophoresis. *Talanta*. 63: 451–459.
- 12) Eyup, S.K. 2011. Hyperspectral reflectance data processing through cluster and principal component analysis for estimating irrigation and yield related indicators, *Agric. Water Manag.* 98: 1317–1328.
- 13) Meharg, A.A. and M.R. Macnair. 1992. Suppression of the high affinity phosphate uptake system: a mechanism of arsenate tolerance in *Holcus lanatus* L. *J. Exp. Bot.* 43: 519–524.
- 14) Ishii, T. and T. Matsunaga. 2001. Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan. *Phytochemistry*. 57: 969–974.
- 15) Taiz, L. and L. Zeiger. 2004. *Plant physiology* 3rd edition. pp. 65–73. Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc., Redwood City.
- 16) Datta, R., P. Das, R. Tappero, P. Punamiya, E. Elzinga, S. Sahi, H. Feng, J. Kiiskila, and D. Sarkar. 2017. Evidence for exocellular arsenic in fronds of *Pteris vittata*. *Sci. Rep.* 7: 2839.
- 17) Xu, X.Y., S.P. McGrath, and F.J. Zhao. 2007. Rapid reduction of arsenate in the medium mediated by plant roots. *New Phytol.* 176: 590–599.
- 18) Liu, W.J., B.A. Wood, A. Raab, S.P. McGrath, F.J. Zhao, and J. Feldmann. 2010. Complexation of arsenite with phytochelatins reduces arsenite efflux and translocation from roots to shoots in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 152: 2211–2221.
- 19) Su, Y.H., S.P. McGrath, Y.G. Zhu, and F.J. Zhao. 2008. Highly efficient xylem transport of arsenite in the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata*. *New Phytol.* 180: 434–441.
- 20) Woods, W.G. 1996. Review of possible boron speciation relating to its essentially. *J. Trace. Elem. Exp. Med.* 9: 153–163.