

■原 著 ■ 2004-2005 年度神奈川大学共同研究奨励助成論文

重金属汚染土壤から汚染物質を回収する高機能環境修復植物の探索 (ケナフによるカドミウム除染の可能性)

澤上航一郎¹ 稲住勇氣² 大石不二夫² 井上和仁¹ 西本右子² 鈴木祥弘^{1,3}

Possible Phytoremediation of Cadmium Pollution Soil with Kenaf

Koichiro Sawakami¹, Yuki Inazumi², Fujio Ohishi², Kazuhito Inoue¹,
Yuko Nishimoto² and Yoshihiro Suzuki^{1,3}

¹ Department of Biological Sciences, and

² Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka-City, Kanagawa
259-1293, Japan

³ To whom correspondence should be addressed. E-mail: syoshi@bio.kanagawa-u.ac.jp

Abstract: Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), which can grow rapidly and maintain high primary production, was examined for its ability to decontaminate cadmium ions (Cd) from polluted soil. Although its germination and growth were not affected at first, its photosynthesis dependent growth was disturbed by Cd in the soil. No growth after expanding the true leaves was observed at above 111 ppm Cd. At 74.1 ppm Cd, kenaf could acclimate and began to grow after a few weeks lag. The biomass increased by 2.4 times from 4 to 6 weeks after sawing. Higher accumulation rates were observed in the plant body at below 74.1 ppm Cd. The rate increased to 6.4 times in the plant body at 1.48 ppm Cd. Assuming the same productions of kenaf as on the soil without Cd, it could decontaminate 1.48 ppm Cd from the polluted soil for ca. 16 years and could more efficiently from the soil containing lower concentrations of Cd. These results suggested the possible phytoremediation with kenaf applied to the polluted soil with lower concentrations of Cd.

Keywords: acclimation, cadmium, decontamination, kenaf, phytoremediation

序論

工場跡地や産業廃棄物処理場などの周辺の土地を再利用する際、基準値を超える重金属や揮発性有機化合物による汚染が見つかることは少なくない。こうした土地を除染し、再び利用可能にするためには、多大なコストが必要であり、日本国内だけでも、対策費用は13兆円に達すると試算されている¹⁾。また、工業化の進んだ発展途上国でも土壤汚染は深刻な問題であり、除染費用を持たないこれら途上国にとって、低コストの除染技術が不可欠なものとなっている。

近年、低コストの除染技術として、微生物を用いる除染方法（バイオレメディエーション）が注目されている。バイオレメディエーション法は、微生物を用いて揮発性有機化合物を分解する除染法で、タンカーからの流出原油の除染などに活用されている。この方法でも、重金属化合物を可溶化あるいは無毒

化することが可能であるが、元素自体が毒性を持つ重金属を回収・除去することはできない²⁾。これに対し、維管束植物を用い、元素自身を回収・除去し、汚染土壤の除染を行う方法がある。維管束植物の蒸散に伴う水の流れを利用して、汚染物質を植物体内に回収し、植物体とともに除去することで除染を行うこの方法は、ファイトレメディエーションと呼ばれている。

これまでのファイトレメディエーションでは、鉱山地域に特異的に分布し、汚染土壤でも栽培できることが予め分かっている重金属耐性植物が用いられてきた。しかし、こうした重金属耐性植物の多くは、生長が遅く、バイオマスが小さいため、大量の汚染物質を効率よく回収することは難しかった。その後、さまざまな植物で汚染土壤に対する耐性が試験され、重金属耐性植物以外でも、一定の濃度の汚染に対し

耐性があり、しかも生長が速くバイオマスが大きいため、重金属を有効に回収する植物ことが分かり³⁾、効率のよい除染が可能となりつつある。本研究では、生長が速くバイオマスが大きいばかりでなく、蒸散速度が高く、蒸散に伴う水や土壤からの物質移動量が大きいことが知られているケナフ (*Hibiscus cannabinus* L.) に着目し、ファイトレメディエーションへの利用を検討した。ケナフでは、農業基準値 (1 ppm) 濃度のカドミウム (Cd) 除染に一定の効果が期待されている⁴⁾。本研究では、様々な濃度の Cd 汚染土壤でケナフを栽培し、汚染土壤に対する応答を明らかにし、さらに、どのような濃度の Cd 汚染土壤で効率よく除染することが可能かを定量的に検討した。

材料と方法

黒土（黒土、アイリスオーヤマ）、赤玉土（上質赤玉土・小粒、アイリスオーヤマ）を 1:1 の比率で混合した土壤を用いた。プラスチック容器（内径 380×260×240 mm）に 20 l の混合土壤を満たし、1、10、100、150、300 mg·l⁻¹ の Cd 濃度になるよう硫酸カドミウム水溶液を加え、局所的な濃度の変化ができる限り少なくするよう十分に攪拌した後、汚染土壤として用いた。汚染土壤と Cd を混合しない対照土壤 (0 ppm) の各 20 l に、化成肥料（飼料作物配合 246 号、全国農業協同組合連合会）を 25 g 混合し、施肥した。各容器にケナフ (*H. cannabinus* cv. Evergrades41) の種子を 30 粒 (10 粒づつ 3 列) 播種し、気温 30°C、湿度 65% を保ち、陽光ランプにより 16 時間明期/8 時間暗期 (500 μmol photons·m⁻²·s⁻¹) の光条件に制御した人工気象室（小糸工業株式会社）内で栽培を行った。栽培期間中は充分な灌水を行い、土壤が乾燥しないよう留意した。

播種 31 日後、各系列で栽培された個体の発芽率を調べ、各個体の葉の枚数を測定した後、植物体を回収し、光合成器官（葉）、支持器官（葉柄・茎・根）、分裂器官（茎頂・腋芽）に分けた。各器官を紙袋に入れ、60°C に設定した乾燥機（DRYING OVEN, SANYO）内で 2 週間乾燥し、乾燥重量を測定した。植物体中の Cd 濃度を測定し、生長に伴う土壤 Cd 成分の植物体への吸収・蓄積を調べた。乾燥させたケナフ試料は、それぞれの器官ごとに電動ミル（IFM - 100, IWATANI）にかけ破碎した。均一な粉末となった植物体から各 1.0 g を正確に秤量してルツボに移し、電気炉（1C 型、林電工）中、500°C で灰化した。灰化した試料は、0.1 M 硝酸溶液 100 ml 中で 30 分間攪拌し、重金属を溶出させた。溶液を定量濾紙（No.5B と No.5C, ADVANTEC）とシリン

ジフィルター（No.190, 孔径 0.45 μm, NALGENE）で濾過し、ICP-MS とフレーム原子吸光を用いて分析を行った。

275 ml のポットを用いて汚染土壤中でケナフを栽培し、同様の実験を行った。Cd 濃度 0、50、75、100 mg·l⁻¹ の混合土壤をそれぞれ 200 ml 入れ、ケナフ種子を各 3 粒播種した。液体肥料（ハイポネックス液 6-10-5, Hyponex 社）の 500 倍希釀液を与えて栽培し、子葉展開後、生育の良い 1 株を残し、残り 2 株を間引いた。2 週間毎に地上高と地表の茎直径を測定し、茎の形状を円錐に近似して、茎体積を求め、生物量を推定した。

結果と討論

土壤の密度より、各汚染土壤の 1、10、100、150、300 mg·l⁻¹ の Cd 濃度はそれぞれ、1.48、14.8、148、222、444 ppm に換算された。ケナフ種子は、全ての濃度の汚染土壤で、播種後 2 から 3 日で発芽した。播種後 31 日目の各汚染土壤で生育していた植物体と播種した種子数を比較し発芽率を求めた結果、全ての土壤で 80%以上となり、Cd によるケナフ種子の発芽阻害は認められなかった（表 1）。また、発芽後、子葉が展開するまでは各土壤でケナフの生長に顕著な違いは認められなかつたが、その後の生長は、土壤の Cd 濃度により異なっていた。低濃度の Cd を含む土壤でも生長が阻害され、その程度は Cd 濃度が高いほど著しかった（図 1）。148 ppm を越える汚染濃度では、本葉の展開が遅れ、その後、生長が著しく阻害された。このため、播種 31 日目の時点で展開した葉枚数も Cd 濃度の上昇とともに低下した（表 1）。また、容器あたりの全乾燥重量も、148 ppm 以上の汚染濃度では、Cd を含まない対照土壤の 10%未満となつた（図 1）。内蔵する資源を用いて生長する子葉の展開までは汚染による影響が認められず、その後の生長で差が生じていることは、Cd がケナフの光合成・一次生産を何らかの形で阻害していることを示している。

各汚染土壤で栽培したケナフの乾燥重量から地上部と地下部比を求めるとき、Cd 濃度が 0~14.8 ppm の植物体では、6.0±0.33 でほぼ一定であったのに對し、148 ppm を超えると徐々に低下し、444 ppm の植物体では 1.9 まで低下した（表 1）。Cd は根に蓄積しやすい重金属であることが知られている⁵⁾。Cd により地上部に比べ地下部の割合が増加したことは、Cd の影響を受け、様々な活性の低下する地下部の生物量を増やし、影響の比較的小さい地上部の活性とバランスをとる順化が行われた可能性を示唆している。一方、葉と茎の比は、Cd 濃度に

表 1. 様々な濃度の Cd を含む土壤で 31 日間栽培したケナフの発芽率、葉数、全乾燥重量と乾燥重量の比

Cd 濃度 (ppm)	0	1.48	14.8	148	222	444
発芽率(%)	90.0	93.3	80.0	80.0	80.0	80.0
葉枚数	9.89	9.13	5.96	4.29	2.54	—
全乾燥重量(g)	31.1	28.4	24.4	2.51	1.27	0.93
地上部/地下部	6.03	5.69	6.36	4.46	2.53	1.91
葉/茎	1.25	1.16	1.15	1.25	1.23	1.13

関わらず一定 (1.2 ± 0.06) であった (表 1)。植物でしばしば認められる汚染物質排出に、葉に集積した汚染物質を葉とともに枯死・脱落させる方法がある⁵⁾。ケナフの葉と茎の比が Cd により変化しないことは、葉の脱落による Cd の排出がケナフでは顕著でないことを示している。

275 ml のポットを用いて各 1 個体のケナフを栽培した。それぞれのケナフの地上高と地表の茎直径を測定し、円錐に近似して求めた茎体積を求め、非破壊的に、継続して各個体の生物量を推定した。この結果をもとに生長解析を行なった。Cd を含まない対照土壤では、本葉の展開が始まる播種 2 週間後より、ケナフの茎体積が対数関数的に増加した (図 2)。これに対して、Cd を含む土壤では、本葉の展開が遅延し、展開後も茎体積の増加は 4 週間目まで認められなかった。その後、148 ppm Cd 土壤では体積の低下が始まり、最終的に枯死した。それより Cd 濃度の低い 111 ppm でも、実験期間中の体積の増加は認められなかった。しかし、さらに Cd 濃度の低い 74.1 ppm Cd 土壤では、4 週間目から生長を再開し、6 週間目には 4 週間目の体積の 2.4 倍となった。これらの結果は、ケナフの Cd 耐性の限界が、74.1~148 ppm の間の極めて高い Cd 濃度にあることを示している。また、74.1 ppm Cd 土壤で認められた生長の一時的な停止は、高濃度鉛汚染土壤でのケナフの生長にも認められた現象である⁶⁾。高濃度の重金属に汚染された土壤で栽培されたケナフに認められる、このような生長の一時的な停止と再開後の生長からは、ケナフが重金属汚染土壤で生長するための耐性を獲得するために、一定の時間を必要とすることがわかる。この間、耐性の獲得に関与する遺伝子の発現など、何らかの順化応答を行なっていることが強く示唆された。

様々な Cd 濃度の汚染土壤で栽培したケナフの地上部乾燥重量あたりの Cd 濃度は、土壤の Cd 濃度とともに上昇し、222 ppm Cd 汚染土壤の植物体では 440 ppm に達した。しかし、栽培実験で最終的に

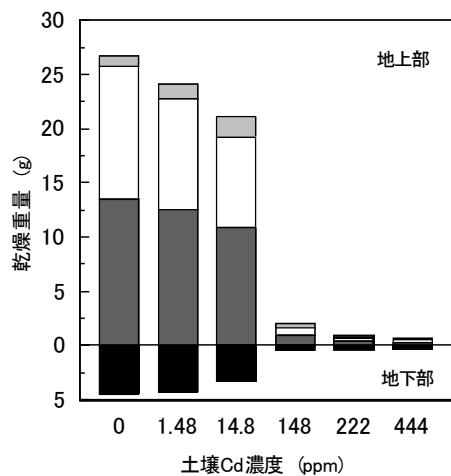


図 1. 様々な濃度の Cd を含む汚染土壤で栽培したケナフ各器官の乾燥重量。播種後 31 日目の植物体を実験区分毎に全て集め、分裂器官(淡灰)、光合成器官(白)、支持器官(地上部:濃灰、地下部:黒)に分け、紙袋中、60°Cで 2 週間乾燥させ測定した。

枯死した 444 ppm Cd 汚染土壤の植物体では 290 ppm の Cd しか検出されなかった (図 3)。444 ppm 汚染土壤の植物体以外では、土壤中の Cd 濃度よりも植物体中の Cd 濃度の方が高い値を示し、ケナフにより Cd が濃縮されたことが示された。植物体の Cd 濃度と土壤中の Cd 濃度から濃縮率を求めるとき、植物体中に最も高濃度の Cd が認められた 222 ppm Cd 汚染土壤で栽培された植物体で 2 倍となつた。148 ppm Cd 汚染土壤で栽培された植物体でも濃縮率は 2 倍となつたが、14.8 ppm Cd 汚染土壤で栽培された植物体で 3 倍を超える濃縮率を示し、1.48 ppm Cd 汚染土壤で栽培された植物体では、6 倍を超える高い濃縮率を示した (図 3)。これらの結果は、土壤中の Cd 濃度が低い土壤で栽培した植物体中では Cd 濃度は低いが、土壤からの濃縮率は高くなることを示していた。本実験では栽培後、約 1 ヶ月で刈り取りを行なったため、植物体の生物量は非常に小さく、実際に土壤から除去された Cd 量は少なかつた。しかしながら、東京近郊において夏季に圃場でケナフを栽培する場合には、ケナフが高い一次生産を示し、半年間で、約 $2 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 達することが知られている⁷⁾。このようなケナフの高い一次生産量を考慮すると、本研究で示されたケナフによる土壤中の Cd の濃縮能力により、1.48 ppm の Cd 汚染土壤で $18.8 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ 、14.8 ppm の Cd 汚染土壤で $98 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ の Cd が 1 回の栽培で回収できることが推定できる。1.48 ppm の Cd 汚染土壤の比重を 0.7 とすると、地表から 30 cm の土壤には約 310 mg の Cd を含む。この結果は、ケナフを用いて土壤から Cd 除去するために、16 年以上の時間を必要とすることも示していた。

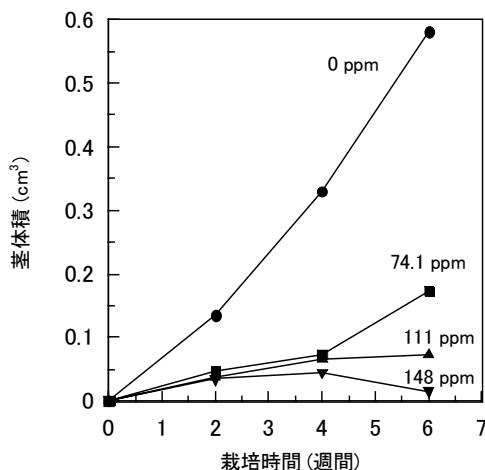


図 2. 茎体積から求めたケナフの生長に対する土壤 Cd の影響。Cd 濃度 0 ppm (●), 74.1 ppm (■), 111 ppm (▲), 148 ppm (▼) の土壤でケナフを栽培し、2 週間毎に地上高と基部茎直徑を測定し、円錐に近似して茎体積を求めた。

植物を高濃度 (30 ppm) の Cd 汚染土壤で栽培した場合、濃縮率は 100% 前後かそれ以下となることから、これまでの研究では、ファイトレメディエーションを Cd の除染に用いることは難しいと考えられていた⁸。しかし、本研究では、ケナフが極めて高い汚染状態にある 74.1~148 ppm の間に生長の耐性限界を持ち、222 ppm の Cd 汚染土壤でも Cd を濃縮できることや、14.8 ppm の Cd 汚染土壤では、高い一次生産すら維持できることなど、Cd 除染にとってこれまでに調べられた植物にない好適な特性を持つことが示された。しかし、本研究の結果からは、高い濃縮率を示し、一次生産が維持される 1.48 ppm、14.8 ppm の Cd 汚染土壤でも、ケナフによる Cd の除染には 16 年以上の時間が見積もられた。土壤からの汚染物質の回収は、回収する植物体の生物量とともに、生物体への汚染物質の濃縮がきわめて重要である。ケナフ以上の一次生産を行い、植物体の生物量が大きくなる植物が少ない。このため、ファイトレメディエーションをより効率的に行うには、植物体に高い濃縮率で Cd を回収することが不可欠であると考えられる。低濃度ほど高い濃縮率で Cd を回収することを示した本研究の結果（図 3）は、1.48 ppm 以下の低い濃度で汚染された土壤で、ケナフが高濃縮率で Cd を回収する可能性を示唆している。

低濃度汚染土壤でのケナフの Cd 濃縮率、さらに、本実験で行なわれなかったケナフ地下部の Cd 濃縮・回収特性、他品種の特性の検証など、今後明らかにすべき点は多い。しかし、本研究は、ケナフを用いたファイトレメディエーションが、低濃度汚染土壤からの完全な Cd 除去に有効であることを定量

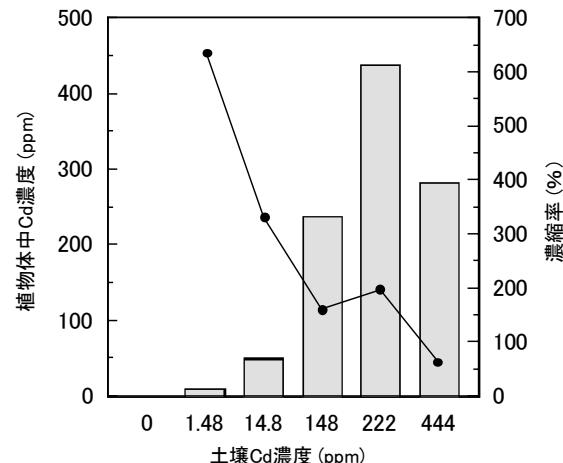


図 3. 様々な濃度の Cd 汚染土壤で栽培したケナフ中の Cd 濃度と濃縮率。灰棒は植物体中の Cd 濃度を、黒丸は濃縮率を示す。

的にあきらかにするものである。

謝辞

本研究は、2005 年度 神奈川大学共同研究奨励金による支援を受けて実施された。
本研究を進めるにあたり、多大なるご協力を賜ったスミコンセルテック株式会社の二見達也氏、釜野徳明神奈川大学名誉教授に深く感謝申し上げる。

文献

- 1) 土壤環境センター編 (2000) 我が国における土壤汚染対策費用の推定—土壤汚染対策費用の推定—土壤汚染浄化費用の推定—(社) 土壤環境センター。
- 2) 大森俊雄 (2000) 重金属汚染の微生物除去、第 8 章、環境微生物学 環境バイオテクノロジー、(株)昭晃堂、pp. 106-116.
- 3) Schepers T (2003) Phytoremediation of heavy metals from soils. In: *Phytoremediation, Advance S in Biochemical Engineering Biotechnology*. Springer-Verlag, Berlin. pp. 98-123.
- 4) Kurihara H, Watanabe M and Hayakawa T. (2005) Phytoremediation with Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) for Cadmium-Contaminated Paddy Field in Southwest Area of Japan. *Jpn. J. Soil. Sci. Plant Nutr.* **76**: 27-34.
- 5) Fitter AH and Hay RKM (1987) Ionic toxicity. In: *Environmental Physiology of Plants*, 2nd ed. Academic Press Inc, San Diego. pp. 225-259
- 6) Sawakami K, Ohishi F, Kurosawa S and Suzuki Y (2005) Acclimations of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) to Pb in a Polluted Soil. *Sci. J. Kanagawa Univ.* **16**: 63-66.
- 7) 鈴木祥弘、釜野徳明、鈴木祐也 (2001) ケナフ (*Hibiscus cannabinus* L.) 12 品種の一次生産速度の季節変化と年間一次生産の違い、神奈川大学理学部総合理学研究所年報 2000, **12**: 67-89.
- 8) 館川洋 (1975) 植物を利用した土壤中のカドミウムの除染方法、農業土木学会誌. **43**: 674-681.