

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580071

研究課題名（和文） 植物生育に影響する要因を考慮した土壤中の重金属吸収性評価法の確立とその応用

研究課題名（英文） Using xylem sap method considering factors influencing plant growth to evaluate heavy metal availability in soil

研究代表者

野口 章 (NOGUCHI AKIRA)

日本大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：20222193

研究成果の概要（和文）：被験土壌で生育させたヘチマ幼植物下胚軸から得られる導管液の濃度を可給性の指標とする「導管液法」は、植物生育に影響する要因を考慮した養分可給性評価法として提案された。本研究では、当法を用いることにより、根圏の重金属吸収性（可給性）の評価も可能であること、土壌 pH 変化に基づく重金属可給性の変化を評価し得ること、ケミズキンバイによる導管液法を用いればドミウム汚染米産出リスク予測にも応用し得ることが認められた。ただし低 pH 時や高土壌水分条件ではヘチマによる導管液法の利用には限界が示された。

研究成果の概要（英文）：The xylem sap method was proposed to evaluate availability of nutrient elements in soil. It makes concentration of nutrients in xylem sap an indicator of their availability in rhizosphere. The method might be suitable to evaluate an availability of heavy metals in rhizosphere and to predict to be produced Cd contaminated rice. However, it is not possible to use evaluating them on the low pH or highly moist soils.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,100,000	630,000	2,730,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学／植物栄養学・土壌学

キーワード：土壌、重金属、カドミウム、可給性、導管液（法）、ヘチマ、ケミズキンバイ、玄米

## 1. 研究開始当初の背景

安全な食料を安定供給するために、土壌中の重金属の可給性を評価することは重要である。この評価には通常、ある種の溶媒で土壌から抽出される濃度を重金属の可給態含

量の指標とする「溶媒抽出法」が多用されている。同法は操作が簡便で再現性も高いが、被験土壌の理化学性やその他の条件により植物生育や根の吸収活性に差が生じて吸収され得る重金属量に変化したとしても、物理

化学的手法である溶媒抽出法でそれを予測することは難しい。また、使用する溶媒は特定の元素を抽出するものであるため、肥料成分も含めた複数成分を同時に抽出することは困難である。

## 2. 研究の目的

申請者はこれまでに、土壌中の肥料成分の可給性を評価する方法として「導管液法」を提案した。これは植物根を養分抽出の道具として用いるものであり、比較的多量の導管液を溢泌することを理由に当法の標準植物として選定したヘチマ (*Luffa cylindrica*) 幼植物を被験土壌で数日間生育させた後、子葉直下の下胚軸を切断して得られる導管液を採取し、そこに含まれる養分濃度を可給性の指標とするものである。この方法では複数の養分を同時に抽出・評価でき、また植物根を利用するので根の養分吸収能も考慮される。さらに溶媒抽出法に求められる土壌の風乾操作は必要なく、植物が生育中の土壌水分条件下で抽出が行なわれるため、酸化還元電位によって存在形態が変化するような成分の可給性評価にとって、とくに有効な方法であると考えられる。そこで本研究では、複数成分の吸収性を同時に評価でき、植物活性の差異を包含した土壌中肥料成分の可給性評価法として提案した導管液法を、重金属に応用可能か否かを明らかにし、可能な場合はそれを用いて土壌中の可給性を評価することを目的とした。

## 3. 研究の方法

元素の植物への可給性を表現できる方法の条件として、少なくとも、土壌条件に関わらず植物組織中濃度とその方法で得られる当該元素の濃度との関係式が等しく、その推定誤差も小さくなることが求められる。この観点から本研究では、導管液法に用いた植物

の地上部（茎葉）中濃度と導管液法で得られた濃度（＝導管液中濃度）との関係が、付与した条件に関わらず同等であることをもって、導管液法が土壌中重金属の可給性評価に利用可能であるとの判断基準とする。試験方法は、(2) ②以外は基本的に 500～1000mL 容プラスチックビーカーを用いたポット試験である。

### (1) 土壌中重金属の吸収性評価に対する導管液法の適用

#### ①導管液法適用可能な根圏重金属濃度の把握

標準植物に選定したヘチマの根圏重金属濃度が導管液中濃度に的確に反映される領域を明らかにするために、培地の重金属全形態が可給態とみなされる水耕法を用い、ヘチマ茎葉中含有率と導管液中濃度の関係を検討した。このとき、Cd、Cu、Ni、Co、Zn、Mn を水耕液に単塩添加する処理 ( $3 \times 10^{-7} \sim 10^{-2} \text{M}$ ) と、Cd : Cu : Zn = 1 : 1 : 3 の濃度比で水耕液に混合添加する処理 (Cd 濃度として  $10^{-8} \sim 10^{-5} \text{M}$ ) を実施した。

#### ②土壌条件の差異に基づく重金属可給性（吸収性）評価への適用

重金属の可給性を変化させる土壌要因として、pH、CEC、有機物含量、水分などが挙げられる。本項では、pH、土壌種、水分を変化させて、土壌中重金属の可給性評価に導管液法が適用可能か否かを検討した。

a) 水耕液 pH を 2～7 に設定したときの Cu、Zn、Mn の吸収性の変化を導管液法で評価可能か否かを予備的に調べた上で、2 種の異なる土壌（火山灰性休耕田土壌、沖積性未耕地土壌）の pH を 3～6 に設定し、養分元素としての Cu、Zn、Mn の可給性評価の可否を検討した。 b) 3 種の異なる土壌（火山灰性林地土壌、沖積性水田土壌、沖積性未耕地土壌）に 1mg/kg の Cd を添加し、その可給性

評価の可否を検討した。次いでこれらの土壌の pH を 3~9 に設定して 1mg/kg の Cd を添加し、その可給性評価の可否を検討した。c) 湿潤条件で導管液法に利用可能な標準植物を選定するために、供試土壌の水分を最大容水量の 70% (畑条件)、100% (湿潤条件)、湛水に設定し、沼沢性植物であるケミズキンバイ (*Ludwigia adscendens*) を栽培して生育をヘチマと比較した。

## (2) 導管液法による土壌中重金属可給性の評価と応用

### ①施用窒素質肥料の差異に基づく Cd 可給性変化の評価

供給する窒素質肥料の種類によって植物の Cd 吸収量が異なることが知られているので、このときの Cd 可給性の差異を導管液法で評価可能か否かを検討した。すなわち、土壌水分を最大容水量の 60%とした沖積性未耕地土壌に 1mg/kg の Cd を添加し、硫安、硝安、塩安でそれぞれポット当り 0.003~0.03g の N を加えてヘチマ導管液法による Cd の可給性評価の可否を検討した。

### ②Cd 汚染米産出リスク予測への導管液法の応用

0.3mg/kg の Cd を含有する土壌を a/2000 ワグネルポットに充てんして水稻を栽培する際に、供試土壌、施用肥料の種類をえることにより玄米に取りこまれる Cd 濃度を变化させた。このとき、幼穂形成期ならびに出穂期に当る時期に水稻株脇にヘチマおよびケミズキンバイを移植して導管液を得、その Cd 濃度と収穫された玄米 Cd 含有率との関係から、Cd 汚染米産出リスク予測に導管液法が応用可能か否かを検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 土壌中重金属の吸収性評価に対する導管液法の適用

#### ①導管液法適用可能な根圏重金属濃度の把

握

単塩添加の場合、ヘチマ茎葉の各重金属含有率と導管液中の濃度とは正比例し、また、水耕液中重金属濃度の変化に伴う水耕液中共存元素の吸収量の変化も同様に導管液濃度と比例した。したがって導管液中濃度は当該重金属の吸収量を反映し、導管液法でその吸収性を示し得ることが認められた。ただし Cd、Cu は  $10^{-5}$ ~ $3 \times 10^{-5}$ M 以上、Ni、Co、Zn は  $3 \times 10^{-5}$ ~ $10^{-4}$ M 以上の添加で、ヘチマ生育と導管液溢泌のいずれかあるいは双方が阻害されたので、それぞれの重金属がこのような高濃度で根圏に存在する場合には導管液法の利用が困難である。なお、養分元素として水耕液中に添加されている当該重金属以外の重金属についても、茎葉の含有率と導管液中の濃度とが比例したことから、導管液法によりこれらの吸収性を示し得ることを認めた。

### ②土壌条件の差異に基づく重金属可給性 (吸収性) 評価への適用

a) 予備試験では、水耕液の pH3 以下でヘチマ生育量が低下し pH2 で枯死したことから、土壌溶液の pH が 3 以下の場合には導管液法の適用が困難であると推測された。一方、生育と導管液溢泌量が pH の影響を受けない領域では、水耕でも土耕でも Cu、Zn、Mn の茎葉中含量と導管液中濃度は比例し、土耕法での両者の相関係数は、塩酸抽出性濃度とのそれよりも大きかった。このことから、一定の土壌 pH 領域において、根圏の pH 変化に基づく養分元素としての重金属の可給性変化はヘチマ導管液法で評価可能であると考えられた。b) 土壌種のみを変えたときには、ヘチマ茎葉中の Cd 含有率は導管液の Cd 濃度と比例したが、土壌 pH を変化させる要因を組み合わせるとその比例関係はきわめて弱くなった。ただしこのとき、従来法であ

る塩酸抽出法で得られた Cd 濃度とヘチマ茎葉中の Cd 含有率間にもほとんど比例関係が見られなかった。このことから、土壌要因に基づく Cd 可給性変化をヘチマ導管液法で評価できる可能性が示されたが、さらに他の要因に基づく可給性変化の検討も必要であろう。c) ヘチマを湛水条件で栽培すると畑条件時の 50~60%の生育量となったが、ケミズキンバイの生育は全く低下しなかった。したがって、湿潤~湛水条件での導管液法標準植物の候補となり得ると考えられた。

(2) 導管液法による土壌中重金属可給性の評価と応用

①施用窒素質肥料の差異に基づく Cd 可給性変化の評価

ヘチマ茎葉中 Cd 含有率は硫酸<硝安<塩安で、N施用量の差異はほとんどなかったが、導管液中 Cd 濃度は硫酸>硝安>塩安で、なおかつ窒素施用量が多いほど Cd 濃度は低くなった。したがって当試験条件では、導管液濃度で Cd の可給性を評価できるとは言えなかった。

②Cd 汚染米産出リスク予測への導管液法の応用

幼穂形成期と出穂期に水稻株脇に移植したケミズキンバイから得た導管液中 Cd 濃度は、収穫された玄米 Cd 含有率と比例した。したがってこれらの濃度から Cd 汚染米産出リスクを予測することが可能であると考えられた。ただし、上述のように湛水条件でヘチマは正常な生育を示さず、導管液法に利用できなかった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Xue Qiang Zhao, Shi Wei Guo, Fumie Shinmachi, Michio Sunairi, Akira Noguchi, Isao Hasegawa and Ren

Fang Shen, Aluminium tolerance in rice is antagonistic with nitrate preference and synergistic with ammonium preference, *Annals of Botany*, 111, 69-77, 2013, 査読有

② Qi Long Zeng, Rong Fu Chen, Xue Qiang Zhao, Ren Fang Shen, Akira Noguchi, Fumie Shinmachi and Isao Hasegawa, Aluminum could be transported via phloem in *Camellia oleifera* Abel., *Tree Physiology* 33, 96-105, 2013, 査読有

[学会発表] (計 4 件)

① 野口章、渡辺梓、長谷川功、可給態成分定量への植物導管液利用の試み、植物が吸収可能な重金属量把握への応用、日本土壌肥料学会 2012 年度鳥取大会、2012.9.6、鳥取

② 野口章、渥美磨紀、本間結衣、中山大輔、長谷川功、導管液法によるカドミウム汚染米産出リスクの予測、日本土壌肥料学会 2011 年度つくば大会、2011.8.9、つくば

③ 佐藤伸子、野口章、長谷川功、植物のカドミウム吸収に及ぼすアーバスキュラー菌根菌接種の影響、2010 年度日本土壌肥料学会関東支部大会、2010. 12. 5、埼玉

④ 野口章、田代絵史、黒崎美穂、三井有穂、新町文絵、長谷川功、強還元土壌で生育する水稻の稔実障害、稔実障害を引き起こす体内の養分動態の検討、日本土壌肥料学会 2010 年度北海道大会、2010. 9.9、札幌

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

野口章 (NOGUCHI AKIRA)

日本大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：20222193

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし