

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H00961

研究課題名(和文) 重金属の移行制御による汚染農地での穀物の持続生産に資する栽培管理

研究課題名(英文) Cultivation management for retaining grain production in polluted farmland by controlling the mobility of heavy metals in soil

研究代表者

堀野 治彦 (Horino, Haruhiko)

大阪公立大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：30212202

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,800,000円

研究成果の概要(和文)：重金属汚染農地に対する従来の工学的、生物学的修復技術などの代替として、有機質改良資材(有機物)を使った作物への移行抑制技術が注目されている。これまでの研究で牛ふんが高い不動化効果を発揮すること、有機物を腐熟させると当該効果が增大することが判った。本研究では特に有機物の腐熟度が重金属不動化効果の寄与度を検討し、さらに、植物ポット実験を実施することで安全な農作物生産の指針を示すことを考えた。その結果、C/N比(腐熟度の指標)によって有機物の不動化効果を推定できることが示唆された。さらに、植物ポット試験では、可食部への移行の可能性は低いこと、牛ふんにはイネへの重金属移行抑制があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重金属汚染農地においてたとえ短期的であっても安全な農作物を生育させることは、特に途上国においてはフードセキュリティを担保することだけでなく、本質的な環境修復に対応する時間を確保する点からも重要である。結果的に、どのような有機物を用いるべきかについての指標を見出すことができ、有機物の取捨選択の時間を短縮させることで現場圃場への迅速な対応を見込めることが期待されるが、土壌管理によっては有機物を投入することで重金属が可溶化する場合や、必ずしも重金属の化学形態(可給性)と作物への移行量とが応答しない場合もあり、これらの対処にはさらなる検討が望まれる。

研究成果の概要(英文)：The immobilization of metals in soils using organic soil amendments (OA), which aims at suppressing uptake of toxic metals to crops has been gaining prominence as an alternative to conventional engineering and biological remediation techniques for heavy metal contamination in farmlands. Previous studies have shown that cow manure compost has a high immobilization effect, that humification of OA increases this effect. We examined the contribution of humification of OA to the immobilization effect of heavy metals and conducted plant pot experiments using soybeans (*Glycine max*) and rice (*Oryza sativa*) to show guidelines for safe agricultural production. The results from our study showed the relationship between the immobilization effect of OA and C/N ratio, which is an index of humification. Furthermore, plant pot tests suggested that the possibility of transfer to edible parts was low, and that cow manure inhibited transfer to crops.

研究分野：灌漑排水学

キーワード：重金属 土壤汚染 化学形態 移行 不動化 有機物 腐熟度

1. 研究開始当初の背景

産業系の排水が所定の処理を経ない不当廃棄や自然災害の発生などに伴い、許容限度以上の重金属が灌漑用水として混入することによって農地が広範囲に汚染された地域がある。今や、重金属汚染土壌への対応は世界的に必要とされている重要な課題である。汚染土壌対策としては、掘削除去や客土工などの土木工学的修復技術と植物吸収（ファイトレメディエーション）などの生物学的修復技術があるが、いずれの対策法もコスト面、効率面から必ずしも有効であるとは言えない。農家の生計のために汚染農地であっても農作物を生育せざるを得ない地域があることを考えると、先の対策の代替として、作物の可食部に重金属が移行しないような持続的管理ができれば、これが実現可能な対策になると考えられる。

農作物への重金属の移行を抑制するために考えられると対策として、有機質土壌改良資材（以下、有機物）を土壌に投入し、重金属を作物に移行しにくい形態に変えられる可能性が一部の研究（Madejón *et al.*, 2011 ; Liu *et al.*, 2009）によって示されているものの、有機物の投入によって重金属の形態がどのように変わるかについて十分な知見が示されていない。また、一般の重金属汚染では、重金属が単一ではなく、複数の重金属が存在しているため、他の重金属と共存した場合に相互の移行性がどのように変わるかという知見も重要である。さらに、重金属の形態に応じて作物の部位ごとへの移行がどう異なるのかについても十分な説明はなされていない。研究代表者らのこれまでの研究で、有機物として牛ふん堆肥（CM）が重金属移行抑制に有効であること（金森ら, 2019）、有機物を腐熟させることによって不動化効果が増大すること、コマツナの根から吸収された重金属が容易に茎葉部に達することが判ったが、どのような要因によってもたらされた結果なのかについては不明である。

2. 研究の目的

以上の背景や成果を踏まえ、特に有機物の腐熟度などの有機物の化学的特性が重金属不動化効果に及ぼす影響を検討することを主として、室内の土壌バッチ実験、植物ポット実験を実施することで安全な農作物の生産に対しての指針を示すことを考えた。特定の有機物（CM）が不動化に有効であることが実証できたが、多様な有機物を逐一試行することは非効率である。どのような有機物が不動化に有用であるか、すなわち、有機物の有する重金属不動化能力を定量的に評価することを追求していくことは実際の重金属汚染圃場での有機物の選択を容易かつ効率化できると見込まれる。本研究では、不動化効果に関与していると思われる因子（腐熟度、施肥割合など）の寄与度を実験的に明らかにするとともに、有機物に適切な指標を特定することを目的とした。また、実際に畑作（大豆, *Glycine max.*）、稲作（水稲, *Oriza sativa*, L.）の栽培試験を実施し、重金属の作物への移行量を観察することによって有機物（CMに限定）による不動化効果を評価し、汚染土壌でも安全な作物を収穫することのできる土壌管理を模索した。

3. 研究の方法

(1)土壌バッチ実験

単一または複数種の重金属を添加した土壌バッチ実験を行った。対象重金属を Cu, Cd, Pb の3種とし、供試土壌は鳥取砂丘砂（土性：砂土、以下、単に砂丘砂）とした。ただし、有機物については、CMの他におがくず（SD）、稲わら（RS0）、鶏ふん堆肥（PM）、魚粉（FM）を用いた。なお、稲わらについては蒸留水で湿らせ、1および3ヵ月間静置して腐熟させたもの（それぞれRS1, RS3）も実験に用いた。有機物のうちCM, PMは重量ベースで10%の割合で、RS0, RS1, RS3は重量ベースで5%の割合で、土壌に投与・混合した後、風乾させ供試した。実験系は、容積50mLのスクリー瓶に有機物混合土壌を充填し、そこに重金属溶液を所定量添加・均質化した。重金属は硝酸銅三水和物、硝酸カドミウム四水和物、硝酸鉛無水和物の水溶液として、土壌中の重金属濃度が 100 mg kgDW^{-1} になるようにした。なお、複数種添加条件下では、各重金属種が 100 mg kgDW^{-1} ずつ入っている。土壌水分状態は圃場容水量（非湛水状態）、湛水状態の2つの条件を設定した。ただし、湛水条件下では、砂丘砂に加え、琵琶湖周辺の水田土（土性：埴壌土）も実験に供した。実験系は実際の土壌環境を模擬するために側面をアルミ箔で遮光した。また、20~30°Cの室内にて実験系を保管し、週に1~2回蒸発減少量に相当する補水を行うことで水分状態を維持した。また同条件での有機物は重金属の不動化効果が高いCM, PMのみに限定した。さらにCMの施肥割合による不動化効果への影響を検討するために、別途重量ベースで3%, 7%のものも用意した。有機物の分解性を考慮し、各条件において重金属を添加後1, 7, 28, 60日に、後述の逐次抽出法を用いて土壌中の重金属の化学形態分析を行った。対照試験（以下、Ctl）として有機物を投与していない条件でも同様の試験を行った。

(2)重金属の化学形態分析

所定期間静置後に実験系を解体し、Tessier *et al.* (1979) の逐次抽出法を参考に土壌中の重金属を化学形態別に分画抽出した。同法から得られる画分に加え、蒸留水を抽出溶媒とした水溶態画分の分析も行った。すなわち、重金属を移行性の大きい化学形態から順に抽出して計5形態を想定し分画した（Fig.1）。なお、本研究では、植物の吸収に大きく関与する水溶態、イオン交換態

(以下、交換態) および環境変化により容易に可溶化する炭酸塩態の計 3 形態を(作物への)「可給態」として重点的に測定した。これ以降に抽出される Fe-Mn 酸化物吸蔵態および有機物結合態は「非可給態」とし、重金属の形態が可給態から非可給態に変化することを「不動化」と定義する。分画した重金属は硝酸による加熱分解(100°C, 1h)を行い、定量ろ紙(No.5B)を用いてろ過した後、ICP 発光分析装置で測定した。測定結果はイットリウム(Y)を内標準物質とした強度比法により補正を行った。

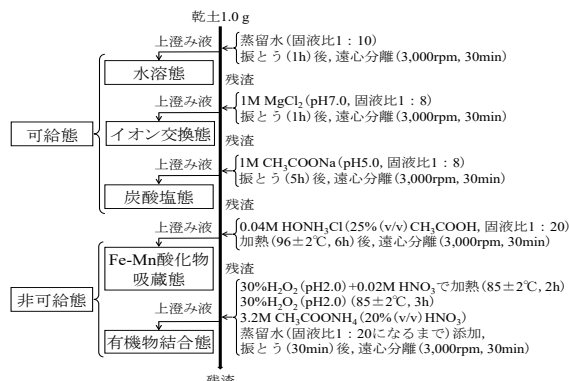


Fig.1 逐次抽出法の操作フロー

(3) 土壌および有機物の理化学性分析

土壌および有機物の性質で重金属の不動化効果に関与していると考えられる陽イオン交換容量(CEC)、有機物含量(強熱減量)、水溶性有機物(DOC)、土壌または有機物混合土壌の pH(以下、pH)、腐熟度を選定し、それぞれの測定を行った。強熱減量試験法に従い有機物含量を測定した。すなわち、電気マッフル炉内において 750±50°C で一定量になるまで加熱して、質量減少率(%)を有機物含量とした。DOC 測定の試料は固液比 1:10(乾土:水)の懸濁液を振とう(165rpm, 1h)後、上澄み液を 20 倍に希釈し、(2)で使用した同種の濾紙を通過したものとした。全有機炭素(TOC)計を用いて適宜希釈補正しつつ TOC 濃度を測定し、これを DOC 濃度とした。pH の試料は固液比 1:5 の懸濁液を振とう(165rpm, 1h)させたものとし、その上澄み液をガラス電極式 pH 計で測定した。有機物の腐熟度については C/N 比に着目し、これを元素分析計にて測定した。

(4) 植物ポット実験

供試土壌は土壌バッチ実験と同じく砂丘砂または水田土で、風乾後 2mm 篩を通過させ、栽培用ワグネルポット(1/5000 a)に乾土相当で埴壤土 1.31 kg、砂土 2.51 kg を充填した。ダイズを播種し、約 1.5 ヶ月後に所定量の重金属溶液を添加した。添加条件は無添加、Cd 単一、Cu 単一、Pb 単一および 3 種混合とし、各重金属濃度を乾土あたり水田土で 50、100 mg kgDW⁻¹、砂丘砂では 25、50 mg kgDW⁻¹とした。反復数を 3 回とし、pF 値が 1.8 となるよう 1~2 日おきに水道水を補給した。植物体の枯死が確認されたものから随時実験終了とし、植物体と土壌の採取を行った。ダイズは根、莖、葉、莢、種子に分け、根は 1% HCl によって 5 秒間洗浄することで付着土を除去した。その後、葉と根の一部を取り、HNO₃: 10ml, HClO₄: 2.5ml, H₂SO₄: 5ml にて酸分解した溶液を ICP 発光分析装置による含有重金属濃度の測定に供した。一方、水稻については、大阪公立大学にて育苗されていたものを使用した。品種はヒメノモチである。上部を切り取ったペットボトル(内径: 8.6 cm, 高さ: 21.8 cm)に水田土(風乾土相当で 0.85 kg)を充填した。対象重金属は Cu、Cd とし、それぞれ 100 mg kgDW⁻¹、10 mg kgDW⁻¹になるよう添加した。重金属添加後 1~2 日程度静置した後に、苗の移植を行い、1 ヶ月程度湛水深が 3 cm 以上になるように蒸留水を供給し、蒸発分を適宜補水した。その後中干し、間断灌漑を行い、イネを収穫した。収穫後、水稻を茎葉、もみ殻、玄米に分け、それぞれ 80°C で 72 時間乾燥させ乾物重量を測定した。茎葉はミキサーで、もみ殻と玄米は乳棒でホモジナイズした後、各部位の重金属濃度を ICP 質量分析装置で測定した。

4. 研究成果

(1) 有機物の腐熟度が重金属不動化効果に与える影響

重金属添加 28 日後における土壌中の各重金属の化学形態別分布と C/N 比の関係を Fig.2 に例示する。一見すると可給態濃度と C/N 比には一定の傾向は見られない。しかし、単一添加において、Cu の PM と FM、Pb の PM を除いて、どの重金属でも、C/N 比の小さい有機物ほど、比較的可給性の高い水溶態+交換態(水+交)の濃度が減少しているのを確認できる。すなわち、熟

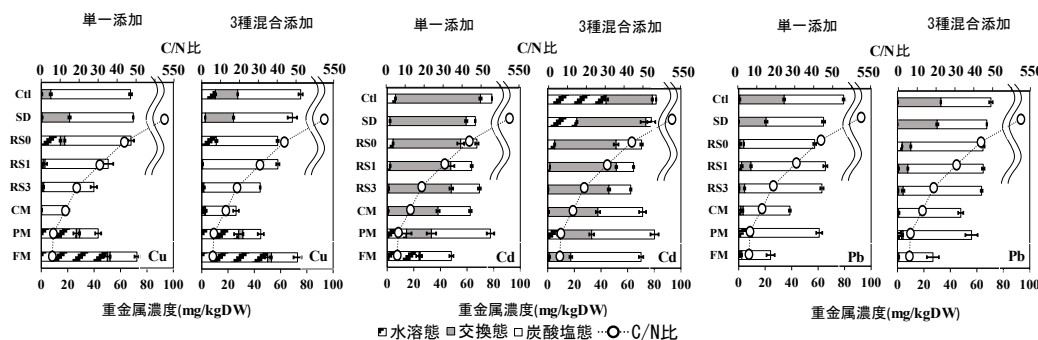


Fig.2 重金属添加 28 日後の各重金属の化学形態別濃度と C/N 比の関係(n=3, DS: 砂丘砂のみ)

している (C/N 比が小さい) ほど重金属不動態化効果が高い有機物であると示唆される。ところで、単一添加条件において、RS0, PM, FM を投与した時に他のものに比べて、Cu, Cd で水溶態濃度が大きい。これは、他の資材に比べて先の3種はDOCが多いため (Table 1), 重金属がこの水溶性有機炭素と結合し、水溶性錯体として多く存在したためと考えられる。有機物にDOCを多く含むと重金属の可給性が促進される可能性があることから、その含量も注意して投与を検討する必要があることが示唆された。また、3種混合添加でも、単一添加と同様、C/N 比が小さい資材ほど、水+交濃度がおよそ減少する傾向がみられ、複合汚染下でも、C/N 比が不動態の有効な指標であることが示唆された。

(2) 湛水による重金属の化学形態の影響

有機物無投与条件下での各土壌における重金属の存在量の割合から (Fig.3), Cu および Cd では土性の違いによらず、1ヵ月程度の湛水によって不動態化効果が得られることが示された。これは還元条件下での不溶性の化学形態 (CuS, CdS など) が生成したものと考えられる。一方、Pb では砂丘砂において湛水による不動態化効果が見られたものの、水田土においては湛水による可溶化が認められた。湛水条件下でのCMの重金属不動態化効果をみると (Fig.4), 湛水・非湛水条件間で比較すると、Cu は両土壌ともに湛水条件下の方が可給態量が高くなっている。Cd は、経過日数や土性の違いによらず、CM 添加条件下で湛水が不動態化に効果的であることが示唆された。しかし、Cu ではむしろ湛水によってCMの不動態化効果が低下するため、非湛水条件下でのCM投与が不動態化に適しているといえる。なお、Pb には、湛水・非湛水条件間および土性の違いによる一定の大小関係は見られなかった。

以上より、湛水条件下でもCM投与による不動態化の増強が図れる場合があることがわかった。ただし、重金属種や土壌の種類によっては、非湛水時よりも水溶性が高まるとなど、湛水が負の効果となる場合も見られた。したがって、汚染状況や土壌の性質を勘案しながら、湛水期間の設定やCMの施用管理を適切に行う必要があると示唆された。

(3) 湛水条件下での各施肥割合が重金属の不動態化効果に及ぼす影響
湛水条件下での重金属の添加量に対する各形態の存在量割合 (以下、可給態割合) を施肥量別に Fig.5 に示す。各施肥量での可給態割合の経時変化をみると、Cu では、ほとんどの条件で減少傾向にある。また、割合にかかわらず、施肥により28日後で可給態割合は10%以下に低下している。一方Cdでは、いずれの条件でも7日後までは可給態割合に顕著な減少はない。28日後は可給態割合が大きく減少するものの、それ以降はやや増加に転じている。ただし、このとき施肥割合に応じて炭酸塩態の割合は増加しており、総じて移行性は低下している。また、いずれの重金属でも、施肥により28日後以降の可給態割合は低い (最大でも20%程度) ことから、数ヵ月に渡る継続的な水稲への重金属移行の可能性は低いと思われる。

Table 1 土壌ならびに各有機物に含まれるDOC濃度 (mg/L)

有機物	DOC
Cl	14.3
SD	53.2
RS0	150.3
RS1	73.3
RS3	90.8
CM	60.1
PM	272.0
FM	125.2

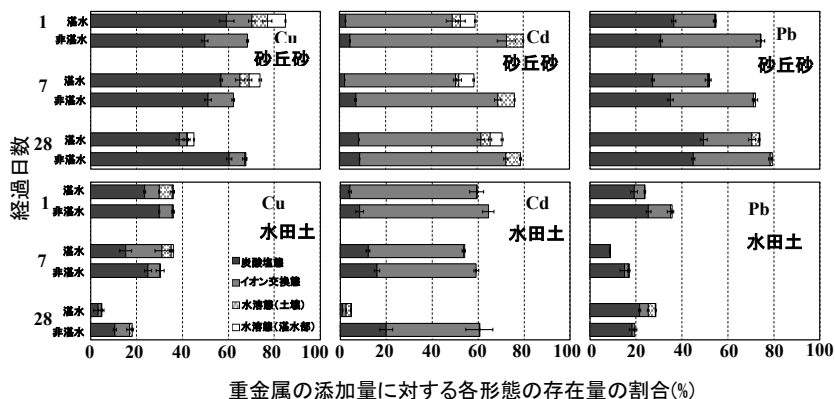


Fig.3 湛水・非湛水条件下での重金属の形態別存在量 (n = 3, エラーバーは標準偏差)

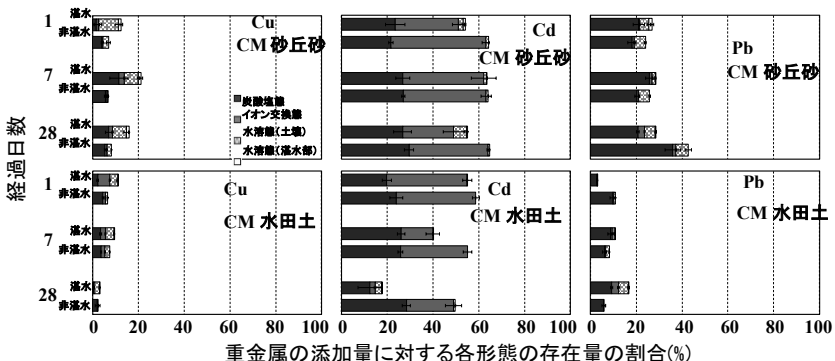


Fig.4 CM投与条件下での重金属の形態別存在量 (n = 3, エラーバーは標準偏差)

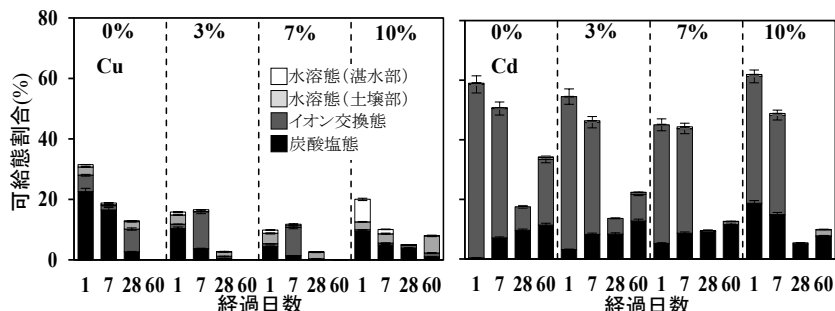


Fig.5 各施肥割合における重金属の化学形態 (n=3, エラーバーは標準偏差)

(5)ダイズを用いた植物ポット実験

種子の重金属濃度は、砂丘砂の共存条件下（添加濃度 25 mg kg⁻¹）で Cd, Cu, Pb がそれぞれ 2.0, 2.8, 1.6 mg g⁻¹ が検出されたが、それ以外は両土壌ともに、種子から重金属はほぼ検出されず、葉と莢からの検出量も

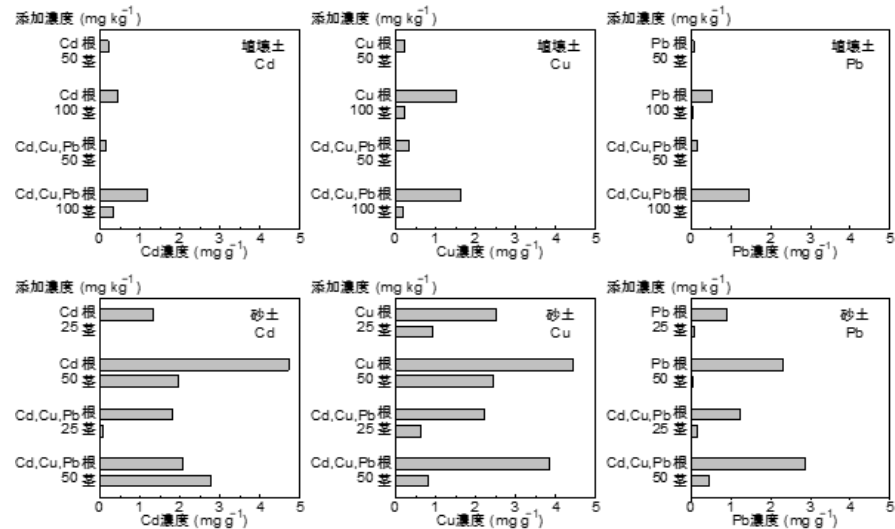


Fig.6 ダイズ各部位の重金属濃度（図中の砂土は砂丘砂，埴壌土は水田土を表す．）

わずかであった。すなわち、ダイズでは有機物を投入せずとも可食部への移行の可能性は低いと思われる。根と茎の乾重あたりの重金属濃度を Fig.6 に示す。重金属 3 種共存により単一の場合と比べて植物体中濃度が増加するケースは、水田土における根の Cd, Cu, Pb, 砂土における根の Pb と茎の Cd, Pb である。共存により低下するケースは、砂土での根と茎の Cu である。高添加濃度条件下では、低濃度条件に比べ、根・茎ともに濃度上昇が見られ、とくに砂土での Cd と Cu の茎への移動量が増加した。

(6)水稲を用いた植物ポット実験

生育試験では、夏場の高温で出穂が遅れた。また、施肥割合 7%の一部の実験系で枯死も見られ、栄養過多や土壤の過剰な還元による障害が考えられた。部位別の重金属濃度を施肥量別に Fig.7 に示す。両重金属ともに茎葉の部位で最も高い濃度で蓄積している。また、玄米に着目すると、CM 投与の方が Cu では重金属濃度が高くなる一方、Cd では CM の施肥割合に関わらず、同程度であった。また、移植後 1 ヶ月程度は、重金属の可給態割合が比較的高い結果から (Fig.5), その期間内で茎葉に移行した重金属がもみ殻や玄米に転流したと考えられる。なお、玄米中の重金属濃度は、コーデックス委員会が定めた玄米中のカドミウムに関する基準値 (0.4 mg kgDW⁻¹) の 6~9 倍になった。土壤の重金属の可給態存在量に対する負荷量の割合 (以下、移行率) を施肥量別に Fig.8 に示す。なお、土壤由来の重金属に関して、Cu は添加量の 5%未満、Cd は検出限界以下であった。Cu と Cd を比較すると、いずれの部位でも Cd の移行率の方が Cu のそれよりも同程度が高い。Cd の大部分がイオン交換態であることを反映している (Fig.5) と推察される。また、両重金属ともに、ほとんどが茎葉に蓄積している。無施肥条件と比べて、施肥割合が 3%では移行率が増加しているものの、7%では移行率が減少しており、バッチ試験と矛盾する結果となったが、この原因の特定には至らなかった。総じて、CM の投与により水稲への移行抑制は見込めることが分かったが、施肥割合によっては生育上の問題が示唆された。

<引用文献>

- ①Madejón, P., Barba-Brioso, C., Lepp, N.W. and Fernández-Caliani, J.C., Traditional agricultural practices enable sustainable remediation of highly polluted soils in Southern Spain for cultivation of food crops, *Journal of Environmental Management*, **92**, 2011, 1828-1836.
- ②Liu, L., Chen, H., Cai, P., Liang, W. and Huang, Q., Immobilization and phytotoxicity of Cd in contaminated soil amended with chicken manure compost, *Journal of Hazardous Materials*, **163**(2-3), 2009, 563-567.
- ③金森拓也, 堀野治彦, 櫻井伸治, 中桐貴生, 中村公人, 砂丘砂における重金属移行抑制に資する有機堆肥の有用性, *農業農村工学会論文集*, **308**, 2019, I_37-I_43
- ④Tessier, A., Campbell, P.G.C., Bisson, M., Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals, *Analytical Chemistry*, **51**(7), 1979, 844-851.

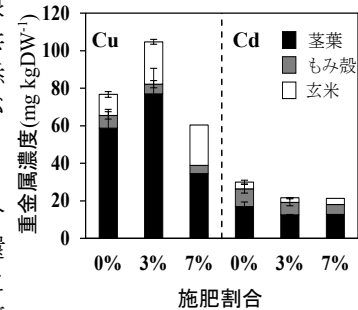


Fig.7 各施肥割合における重金属濃度 (n=3, エラーバーは標準偏差)

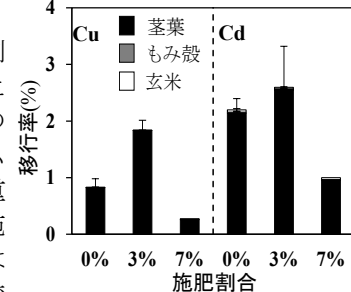


Fig.8 各施肥割合における重金属移行率 (n=3, エラーバーは標準偏差)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 櫻井 伸治、松尾 奈保、堀野 治彦、中桐 貴生、中村 公人	4. 巻 90
2. 論文標題 有機質土壌改良資材のCECや含有水溶性有機物が重金属の不動化効果に与える影響	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 農業農村工学会論文集	6. 最初と最後の頁 I_123 ~ I_130
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11408/jsidre.90.I_123	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 櫻井伸治、堀野治彦、中桐貴生、安田京香、梶間谷俊介
2. 発表標題 有機質土壌改良資材の投与量やリンによる土壌中の重金属不動化への影響
3. 学会等名 農業農村工学会京都支部研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松村寛子、中村公人、櫻井伸治、濱武英、堀野治彦
2. 発表標題 土壌中重金属の共存がダイズの重金属吸収に与える影響
3. 学会等名 農業農村工学会大会講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 櫻井伸治、梶間谷俊介、堀野治彦、中桐貴生、中村公人
2. 発表標題 C/N比の異なる有機質資材による砂丘砂中の重金属の可給性制御
3. 学会等名 農業農村工学会大会講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鳥英格、中村公人、濱武英
2. 発表標題 CdとCuが共存する条件下での土壌への吸着特性
3. 学会等名 農業農村工学会京都支部研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 櫻井伸治、梶間谷俊介、堀野治彦、中桐貴生、石田雅人
2. 発表標題 土壌の有機物量がCECおよび含有重金属の不動化に与える影響
3. 学会等名 農業農村工学会京都支部研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 梶間谷俊介、堀野治彦、櫻井伸治、中桐貴生、中村公人
2. 発表標題 砂丘砂における堆肥の投与と重金属不動化の関係
3. 学会等名 農業農村工学会京都支部研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 櫻井伸治、松尾奈保、梶間谷俊介、堀野治彦、中桐貴生、中村公人
2. 発表標題 土壌中重金属の不動化に有効な投与材の検討
3. 学会等名 農業農村工学会大会講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松村寛子、中村公人、櫻井伸治、堀野治彦、中桐貴生、濱武英
2. 発表標題 埴壤土と砂土における重金属の存在形態とサイズへの移行の関係
3. 学会等名 農業農村工学会大会講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 原百花、青木陽菜子、烏英格、中村公人、櫻井伸治、中桐貴生、堀野治彦
2. 発表標題 埴壤土におけるCd, Cu, Pbの共存がコマツナの重金属吸収に与える影響
3. 学会等名 農業農村工学会京都支部研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松尾奈保、堀野治彦、櫻井伸治、中桐貴生、梶間谷俊介
2. 発表標題 土壌の性質および有機物の投与が重金属不動化に及ぼす影響
3. 学会等名 農業農村工学会京都支部研究発表会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

水環境学研究グループ
<https://www.omu.ac.jp/agri/hydro-envi/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中村 公人 (Nakamura Kimihito) (30293921)	京都大学・農学研究科・教授 (14301)	
研究分担者	櫻井 伸治 (Sakurai Shinji) (30531032)	大阪公立大学・大学院農学研究科 ・講師 (24405)	
研究分担者	中桐 貴生 (Nakagiri Takao) (80301430)	大阪公立大学・大学院農学研究科 ・准教授 (24405)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関