

早生ヤナギを用いた重金属含有土壌浄化技術の開発

石川祐一¹, 矢吹幸子¹, 中川大地¹, 早川敦¹, 栗本康司², 日高伸¹¹ 秋田県立大学生物資源科学部生物環境科学科² 秋田県立大学木材高度加工研究所

成長の速い早生ヤナギの重金属含有土壌浄化の適用可能性を評価するために、重金属含有圃場でのヤナギの生育特性と Cd 吸収量を明らかにすることを本報の目的とした。本研究では、3 品種 4 系統(以下, KKD, HB471, FXM, SEN)のヤナギを供試した。2013/4/26 に定植後、月 1 回程度の生育調査およびリターの回収を経て、2015/12/19 に植物試料を採取し、収量と Cd 含有量を測定した。その結果、1) 0.78 (FXM) ~ 1.35 (KKD) t/10a/2 年の収量が得られたが、既報の 13~25%程度にとどまった。Cd 含有による成長阻害の影響に加えて、気象条件や土壌条件が影響すると推測された、2) 植物体による土壌からの Cd 収奪量は 6.33 (SEN) ~ 13.18 (FXM) g/10a/2 年となり、重金属超集積植物であるハクサンハタザオの 23~48%に相当した。3 年目の成長も鑑みてファイトレメディエーション植物としての利用可能性を見いだすことができた。他圃場との成育差の解明、長期にわたる Cd 収奪量の実態解明、リター回収の影響等を調べるためにも、今後も継続した調査が必要である。

キーワード: 早生ヤナギ, 重金属含有土壌, ファイトレメディエーション, ファイトエクストラクション, バイオマス生産

わが国ではかつて鉛、銅、亜鉛の鉱山や鉱床が多数存在し、それら鉱山からの鉱石採掘や金属の製錬といった人的活動によって重金属が環境中へと排出された。採掘・精錬活動に伴って発生する排煙や鉱山の坑内水、精錬所の排水、及び廃石等の堆積場からの排水等にカドミウムをはじめとする有害重金属が含まれ、灌漑水に混入したことが農地への重金属負荷の主な原因となっている(浅見, 2010)。これまで 7,575ha の農地において農用地土壌汚染防止法で定められた基準値(カドミウム・銅・ヒ素)を超過し、うち 794ha で対策が未完了のまま残されている(環境省水・大気環境局, 2012)。

基準値を超過した土壌への対策として、植物を用いて浄化するいわゆるファイトレメディエーションは客土や化学的洗浄法に比べ低コストであり、環境に負荷の少ない浄化法として着目されている。その地域に適した植物の選定、カドミウム除去効率を向

上させるための栽培・土壌管理技術、植物体からカドミウムを安全に回収・処理する技術開発等の課題の克服と、その実用化のための研究が行われている(茨木と谷口, 2007)。日本ではカドミウム含有土壌の浄化対策として利用が検討されている植物はケナフ(栗原, 渡辺及び早川, 2005)、ソルガム(Ito, Nakagawa, and Sato, 2003)、水稻品種長香穀(Murakami, Nakagawa, Ae, Ito, and Arao, 2009)、ハクサンハタザオ(亀山, 谷, 菅原及び石川, 2009)等の草本植物が多く報告されている。一方、木本植物を用いたファイトレメディエーション事例は海外では数多く紹介されているのに対して(Mleczeek et al., 2010, Mleczecka, Rissmanna, Rutkowski, Kaczmarek, and Golinska, 2009, Kubátová1, Hejman, Száková1, Vondráčková1, and Tlustoš, P., 2016, Pulford, & Watson, 2003)、日本国内での実施例は少ない。

筆者らは、これまでバイオマス資源として成長の

速い早生ヤナギに着目してきた(山田, 山内, 日高, 栗本, 2013)。ヤナギは, バイオマス量の多さ, 再萌芽する生命力の強さ, 寒冷地での生育が可能, 湿潤な土地での生育が可能であることなどの特徴が挙げられる(北海道開発局, 2010)。特に早生ヤナギはバイオマス量が大きいことから, ファイトレメディエーション植物として環境改善の効果が期待できる(Ishikawa et al., 2014)。

以上の背景からヤナギの重金属含有土壌浄化の適用可能性を評価するために, 重金属含有圃場でのヤナギの生育特性と Cd 吸収量を明らかにすることを本報の目的とした。

材料及び方法

供試植物

本研究では, Mitsui et al. (2010) によって選抜された早生ヤナギであるエゾノキヌヤナギ (*Salix pet-susu*) (系統名 KKD, HB471), オノエヤナギ (*S. sachalinensis*) (系統名 SEN), ホソバコウリュウ (*S. pseudolinearis*) (系統名 FXM) の3品種4系統のヤナギを供試した。

圃場概要

2013/4/26 に秋田県大仙市内休鉱山下流に位置する Cd 含有休耕水田(面積 232m²)において挿し木(植物体 30 cm, 地上部 10cm)により4系統各64本ずつ, 計256本定植を行った。植栽は畝幅140 cm, 株間は50 cmとし, 植栽密度は1,100本/10aである。畝には黒マルチ(0.02cm)を施用した。定植前の土壌中 Cd 含量は0.40mg/kgであった。

生育調査と植物体試料採取

早生ヤナギの成長時期である2014年5~12月において約1カ月おきに生育調査を行った(調査日:5/20, 7/9, 8/7, 9/4, 10/8, 11/12, 12/9)。各系統12本の個体を設定し, 樹高を測定した。

また生育調査時に, 枝葉・リターの採取を以下の通り行った。枝葉は7月調査よりランダムに各系統3個体から採取した。リターの採取については, W:53×D:36.5×H:32cmのPP製コンテナにポリエステ

ル製ネットを張ったリターボックスを作成し, 7/24にヤナギ同系統4個体間の間にリターボックス4個を図1のように設置した。8月の生育調査時から毎月リターを全てのリターボックスから回収した。12/9の調査時に各系統3本ずつ地上部全量を回収し, 重量を測定した。



図1 リターボックスの概要

左: ヤナギ個体(星印)の4株の隙間にリターボックス4個を並べた, 右: リターボックスを配置した様子。

植物体の処理と分析

収穫した植物体は, 大学の実験室に持ち帰った後に水道水で洗浄し, イオン交換水でリンスした。その後, 葉と枝に植物体を分け, 新鮮重を測定, 風乾した。当年枝は樹皮が容易に剥離できたが, 2年目以降になると樹皮の剥離が困難であったために材と樹皮を合わせてサンプルとした。風乾サンプルは乾燥重量を測定後, ボールミル(レッチェ社 ミキサーミル MM 400)で粉碎し試料とした。試料を硝酸-塩酸-過酸化水素酸熱分解により, 有機物の分解を行った。ICP 質量分析装置(X-SERIES II Plasma Lab Ver.2.5.9 サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社)により Cd, Mn, Cu, Zn を測定した。

還元率, 収奪量の算出

圃場栽培試験において, 次式により還元率(%)を算出し, リターによりヤナギが吸収・蓄積した Cd がどれだけ土壌に還元しているかを推測した。

$$\text{還元率 (\%)} = \frac{\text{植物体当たりリター中 Cd 含量 (mg/kg/本)}}{\text{植物体当たり地上部 Cd 含量 (mg/kg/本)}} \times 100 \quad (\text{式 1})$$

また, ヤナギの部位別収量(kg/10a)と植物体中 Cd 含量(g/kg)を乗じたものの総和を植物の10a

当たりの Cd 収奪量 (g/10a) として算出した

結果

ヤナギの成長

2014 年 5～12 月の生育調査の結果、定植後 2 年目においても成長を続けていた (図 2)。樹高は、KKD>>FXM \geq HB471 \geq SEN となり、4 系統のうち特に KKD 系統が著しく成長し、12 月には 3.75 \pm 0.48m まで成長した。

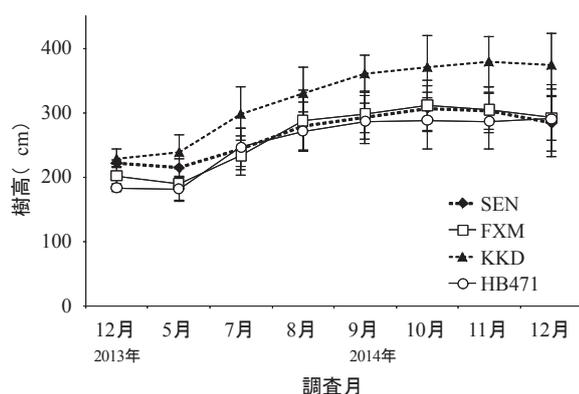


図 2 調査期間におけるヤナギの樹高の変化

供試した 4 系統 (SEN (◆), FXM (□), KKD (▲), HB471 (○)) の平均 (n=12)。エラーバーは標準偏差を示す。

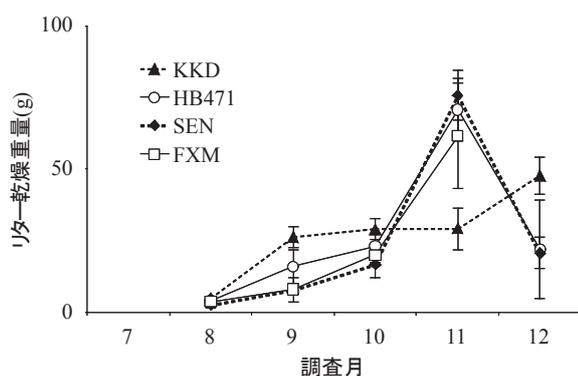


図 3 調査期間におけるヤナギのリター量の変化

供試した 4 系統 (SEN (◆), FXM (□), KKD (▲), HB471 (○)) の平均 (n=3)。エラーバーは標準偏差を示す。

リター量は HB471, SEN, FXM の 3 系統で 10～11 月に落葉のピークが見られ、それぞれ 70.74 \pm 10.75, 75.68 \pm 8.76, 61.54 \pm 18.36g D.W./本となった (図 3)。

一方 KKD 系統では、9～12 月に一定の落葉があり 11～12 月の期間に落葉のピークが見られた (47.65 \pm 6.62g D.W./本)。系統別で落葉時期にやや相違が見られた。

Cd の吸収・蓄積

茎・葉の Cd 含量は、いずれも 5～15mg/kg を示した (図 4)。SEN においては調査期間を通して茎中 Cd 含量よりも葉の Cd 含量が高くなり、KKD・HB471 では 9～10 月に葉の Cd 含量が茎中 Cd 含量よりも高くなる傾向が見られた。一方、FXM では茎と葉の Cd 含量がほぼ同様の値で推移した。リター中の Cd 含量は系統間で顕著な差が見られた。KKD では生葉とリター中の Cd 含量がほぼ同濃度で推移したのに対して、HB471 や SEN ではリター中 Cd 含量が葉中 Cd 含量の約 2 倍、FXM においては約 3 倍に上昇した。その結果 FXM では調査期間中を通じてリター中 Cd 含量が 29.4 \pm 2.0mg/kg D.W.と、高い Cd 蓄積を示した。

Cd の収奪量

地上部全量を回収した個体 (n=3) の個体乾燥重および植物体中 Cd 含量とそこから算出した収奪量を表 1 に示した。個体乾燥重量は樹高とおおむね一致しており、KKD が最も大きく、HB471, SEN, FXM の順となった。植物体 Cd 濃度は FXM が最も高く、次いで HB471, KKD, SEN の順となった。個体乾燥重および植物体 Cd 濃度の積で求められる収奪量は、蓄積濃度が最も高い FXM で 13.18g/10a と最大となった。一方成長量が大きい KKD においては FXM と比較して、収奪量は 8.79g/10a と FXM の約半分になった。還元率は SEN が 36.6% と最も高く、それ以外は 20.1～23.4% とほぼ同様だった。

表1 単位面積当たりCd収奪量(1, 100本/10a/2年)

系統	個体 乾燥重 (t/10a)	植物体 Cd含量 (mg/kg)	Cd収奪 量 (g/10a)	リター Cd収奪量 (g/10a)	全Cd 収奪量 (g/10a)	還元 率(%)
KKD	1.35	5.03	6.78	2.01	8.79	22.9
HB471	0.97	7.97	7.72	1.94	9.65	20.1
SEN	0.91	4.42	4.02	2.31	6.33	36.6
FXM	0.78	12.98	10.10	3.08	13.18	23.4

※n=3. ヤナギの乾燥重量は各系統ヤナギの水分率(Mitsui et al., 2010)を基に, 新鮮重量から計算した. Cd収奪量は葉および茎に蓄積したCdの量, 全Cd収奪量はCd収奪量+リターCd収奪量. 還元率はリターCd収奪量と全Cd収奪量の百分率である.

考察

ヤナギの成長に及ぼすCdの影響

Mitsui et al. (2010) は2年間の栽培試験で4系統の乾燥重量が3.70~6.18t D.W./10aであったことを, また佐藤(2013)は本学フィールド教育研究センターでの試験で新鮮重量および乾燥重量(Mitsui et al. (2010)が示した水分率を用いて換算)が10.5(4.96)~19.5(9.89)t/10aであったことを報告している. これらの結果と2014年5~12月の生育調査の結果

(図2)および個体乾燥重(表1)とを比較すると本報で得られた乾燥重量はMitsui et al. (2010)の15~25%, 佐藤(2013)の13~20%となった. Cd濃度により成長速度は低下するが培養液に最大50μM添加しても10~28%の収量低下であった(石川;未発表)ことから, ヤナギの生育を支配する要因としてCdの存在は相対的に小さいと推測される. その他の要因として気象条件や特に土壌条件が大きいとされる(北海道開発局, 2010)が, どの要因が最も影響を与えているかは今後も圃場間での比較調査を通じて明らかにしていく必要がある.

ファイトレメディエーション植物としてのヤナギ

植物体中のCd含量は4.42~12.98mg/kg D.W.となった(表1). 土壌中Cd濃度が本報とほぼ同等(0.445mg/kg)でヤナギの遺伝子型間の重金属吸収特性を比較したMieczek et al. (2009)は, 供試した10系統のヤナギにおけるCd吸収が最大2.29mg/kgであったことを報告している. これと比較して本研究で供試した4系統のCd吸収能は高く, とくにFXMではMieczek et al. (2009)の5.7倍ものCd吸収が行えたことから, ファイトレメディエーション植物として有望であると示唆された.

一方, Cd収奪量は6.33~13.18g/10a/2年となった(表1). この値は, 重金属超集積植物であるハクサンハタザオ(27.2g/10a/2年)のCd収奪量の23~48%

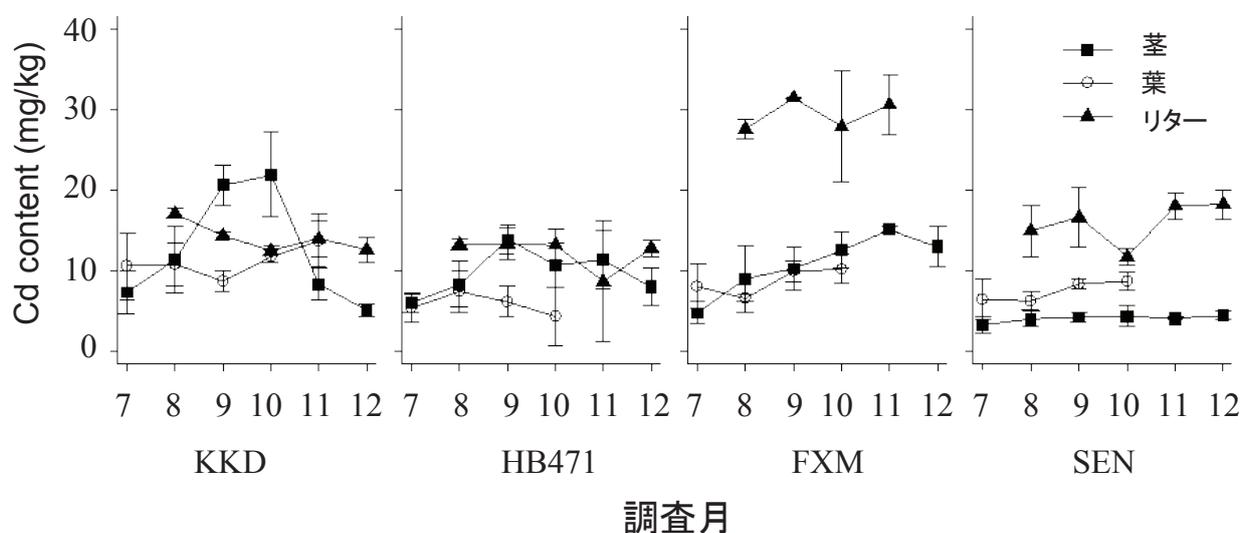


図4 調査期間におけるヤナギ各系統の部位別Cd含量の変化

供試した4系統の平均(n=3). エラーバーは標準偏差を示す. 茎(■), 葉(○), リター(▲)別に記した.

に相当する。3年目も成長が期待できることから（北海道開発局，2010），Cd 収奪量も向上することが期待できる。以上の結果から，早生ヤナギの重金属含有土壌浄化のためのファイトレメディエーション植物としての利用可能性を見出すことができた。

リターによって農地に還元してしまう割合は全収奪量の 20.1~36.6%に達する（表 1 還元率）。落葉がほぼ終了した 11 月後半にリターの回収を行うことによって収奪効率の低下を防ぐことができるだろう。バイオマス資源として非食用利用をする（山田ら，2013）ことで農作物生産以外の土地利用を行いながら重金属の回収浄化が進められることが期待できる。

結論

早生ヤナギの重金属含有土壌浄化の適用可能性を評価するために，重金属含有圃場でのヤナギの生育特性と Cd 吸収量を明らかにすることを目的として本研究を行った。その結果，1) 0.78~1.35 t/10a/2 年の収量が得られたが，既報の 13~25%程度にとどまった。Cd 含有による成長阻害の影響に加えて，気象条件や土壌条件が影響すると推測された，2) 植物体による土壌からの Cd 収奪量は 6.33~13.18g/10a/2 年となり，重金属超集積植物であるハクサンハタザオの 23~48%に相当した。早生ヤナギの重金属含有土壌浄化のためのファイトレメディエーション植物としての利用可能性は高いが，他圃場との成育差の解明，長期にわたる Cd 収奪量の実態解明，リター回収の影響等を調べるためにも，今後も継続した調査が必要である。

文献

浅見輝男（2010）。『改訂増補データで示すー日本土壌の有害金属汚染』。アグネ技術センター
北海道開発局（2010）。「北海道におけるヤナギ栽培マニュアル」。
茨木俊行，谷口彰（2007）「農用地における重金属汚染土壌の対策技術の最前線 4. 植物による汚染農地の修復-実現可能なファイトレメディ

エーションを目指して」『日本土壌肥料科学雑誌』 78，627-632.

Ishikawa, Y., Sato, S., Kurimoto, Y., Yamada, H., Hayakawa, A., and Hidaka, S. (2014) Preliminary Study of Phytoremediation by *Salix* Species on Heavy Metal Polluted Abandoned Farm Land accompanied with Biomass Production. *Journal of Arid Land Studies*. 23(4), 167-172.

Ito M, Ito C, Nakagawa S, Sato F 2003: Cadmium uptake by sorghum (*Sorghum bicolor* Moench) from a Cd contaminated paddy soil for developing phytoremediation. Abstracts of the 1st International Symposium of Japan-Korea Research Cooperation Promising Agricultural Practices and Technologies for Reducing Heavy Metal Concentration in Relevant Staple Crops, p. 68. National Institute for Agro-Environmental Sciences, Tsukuba.

環境省水・大気環境局（2012）。「平成 23 年度農用地土壌汚染防止法の施行状況」。環境省
亀山幸司，谷茂，菅原玲子，石川祐一（2009）「ハクサンハタザオ（*Arabidopsis halleri* ssp. *gemmifera*）による浄化技術の Cd 汚染黒ボク土への適用可能性の検討」『農業・農村工学会論文集』 259, 99-106.

Kubátová1, P., Hejzman, M., Száková1, J., Vondráčková1, S., Tlustoš, P. (2016) Effects of Sewage Sludge Application on Biomass Production and Concentrations of Cd, Pb and Zn in Shoots of *Salix* and *Populus* Clones: Improvement of Phytoremediation Efficiency in Contaminated Soils. *Bioenergy Research*, DOI 10.1007/s12155-016-9727-1

栗原宏幸，渡辺美生，早川孝彦（2005）「カドミウム含有水田転換畑におけるケナフ（*Hibiscus cannabinus*）を用いたファイトレメディエーションの試み」『日本土壌肥料科学雑誌』 76（1），27-34.

Mertens, J., Vervaeke, P., Meers, E., Tack, F.M. (2006) Seasonal changes of metals in willow (*Salix* sp.) stands for phytoremediation on dredged sediment. *Environmental Science & Technology*, 40(6),

1962-1968.

Mitsui, Y., Seto, S., Nishio, M., Minato, K., Ishizawa, K., Satoh, S.(2010). Willow clones with high biomass yield in short rotation coppice in the southern region of Tohoku district (Japan), *Biomass and Bioenergy* 34(4), 467-473.

Mleczek, M., Rutkowski, P., Rissmann, I., Kaczmarek, Z., Golinski, P., Szentner, K., Strażyńska, K., Stachowiak, A. (2010). Biomass productivity and phytoremediation potential of *Salix alba* and *Salix viminalis*, *Biomass and Bioenergy*, 34(9), 1410-1418.

Mleczecka, M., Rissmanna, I., Rutkowski, P., Kaczmarek, Z., Golinska, P. (2009) Accumulation of selected heavy metals by different genotypes of *Salix*. *Environmental and Experimental Botany*, 66, 289-296.

Murakami M, Nakagawa F, Ae N, Ito M, Arai T (2009). Phytoextraction by rice capable of accumulating Cd at high levels: Reduction of Cd content of rice grain. *Environmental Science & Technology*, 43, 5878-5883. doi:10.1021/es8036687

Pulford, I.D., & Watson, C. (2003) Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees - A review. *Environment International*, 29 (4), 529-540.

佐藤里美 (2013) . 「早生ヤナギの環境保全効果及び多面的利用に関する研究-大瀧村圃場における早生ヤナギのバイオマス量とパーティクルボードの評価-」 『2012 年度生物環境科学科卒業論文概要』, 41-42.

高橋祥栄 (2012) . 「低濃度 Cd 含有灰色低地土におけるハクサンハタザオを用いた浄化試験-硫黄添加による影響と浄化効率の推定-」 『2011 年度生物環境科学科卒業論文概要』, 59-60.

山田肇, 山内秀文, 日高伸, 栗本康司 (2013) . 「単年収穫した早生ヤナギの物理性能と耐久性」 『日本木材学会誌』 59 (5) , 278-286.

〔平成 28 年 7 月 20 日受付〕
〔平成 28 年 7 月 31 日受理〕

Development of Cadmium Phytoextraction by Willow Clones with High Biomass

Yuichi Ishikawa¹, Sachiko Yabuki¹, Daichi Nakagawa¹, Atsushi Hayakawa¹, Yasuji Kurimoto², Shin Hidaka¹

¹ *Department of Biological Environment, Faculty of Bioresource Sciences, Akita Prefectural University*

² *Institute of Wood Technology, Akita Prefectural University*

The objectives of the study was to clarify the growth characteristics and Cd uptake of rapidly growing willows to evaluate the feasibility of phytoextraction of Cd from the soil by willows. In the present study, 4 clones from 3 species were selected (i.e., KKD, HB471, FXM, and SEN). After the cuttings were transplanted on April 26, 2013, growth investigations and litter collections were conducted once a month. Whole plant samples were collected on December 19, 2015 to determine plant yield and Cd content. The yield ranged from 0.78 (FXM) to 1.35 (KKD) t/10a/2 years, which was 13%–25% of the yield obtained in the previous studies. In addition to growth inhibition by Cd, climate and soil conditions may have affected growth. Cd uptake by the plant from the soil ranged from 6.33 (SEN) to 13.18 (FXM) g/10a/2 years. This corresponds to 23%–48% of the uptake by *Arabidopsis halleri* subsp. *Gemmifera*, which is a heavy metal hyperaccumulator. The use of willow clones with high biomass is a major candidate for the phytoremediation of Cd because the willow clones continue to grow even in the third year of cultivation. Further studies are needed to identify the factors responsible for growth differences, Cd balance over a long time period, effect of litter collection, etc.

Keywords: fast growing willow, *Salix*, heavy metal containing soil, phytoextraction, phytoremediation, biomass production