

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－中国 研究交流）

1. 研究課題名：「安全な農産物生産を目的とした重金属汚染土壌のバイオリメディエーション技術の開発」
2. 研究期間：平成 20 年 1 月～平成 24 年 3 月
3. 支援額： 総額 19,005 千円
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	荒尾知人 (H20-22)	(独) 農業環境技術研究所	上席研究員
	牧野知之 (H23)	(独) 農業環境技術研究所	主任研究員
研究者	高木和広	(独) 農業環境技術研究所	主任研究員
研究者	石川覚	(独) 農業環境技術研究所	主任研究員
研究者	馬場浩司	(独) 農業環境技術研究所	主任研究員
研究者	赤羽幾子	(独) 農業環境技術研究所	任期付研究員
研究者	南條正巳	東北大学大学院農学研究科	教授
参加研究者 のべ 12 名			

中国側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Yongming Luo	中国科学院 土壤研究所	教授
研究者	Longhua Wu	中国科学院 土壤研究所	教授
研究者	Ying Teng	中国科学院 土壤研究所	准教授
研究者	Haibo Zhang	中国科学院 土壤研究所	助教
研究者	Wuxing Liu	中国科学院 土壤研究所	助教
研究者	Peugjie Hu	中国科学院 土壤研究所	助教
参加研究者 のべ 12 名			

5. 研究・交流の目的

1980 年以降、年 9%以上の経済成長を続けている中国では、様々な土壌汚染が広がり、農産物汚染が報告されている。土壌汚染は大気汚染や水質汚染と異なり目で識別できないため、一般には認知され難い。しかし、中国で汚染されている農地は 1000 万ヘクタールにのぼり、そのほか汚染された水で灌漑（かんがい）されている耕作地などを含めると全国の耕作地の 10 分の 1 以上にもなると推定されている。汚染物質はカドミウム(Cd)、ヒ素(As)、クロム(Cr)、銅(Cu)、水銀(Hg)、ニッケル(Ni)等の金属類、農薬やフェノール類、石油類など、多様であるが、日中両国で共通する土壌汚染は主に重金属に関係している。

このような背景のもと、本研究は、重金属汚染土壌のバイオリメディエーション技術の開発を目的とする。具体的には、日本と中国の土壌を用いてバイオリメディエーション効果に及ぼす重金属の動態を解明するとともに、選抜した重金属蓄積植物を用いて重金属吸収・体内移行過程に係る植物生理的な要因を明らかにする。また重金属蓄積植物のバイオリメディエーション効果を向上させるために、土壌改質資材を用いた重金属吸収・除去促進手法を検討し、生物機能を活用した環境修復技術の開発を行う。さらに、ジフェニルアルシン酸などの有機ヒ素汚染土壌を対象として、有機ヒ素分解微生物と無機ヒ素吸収植物を利用した技術を融合した修復技術の開発を行う。

研究交流にあたっては、日中両国の将来を担う若手中核研究員の受け入れ・相互派遣を重視して環境修復技術の交換・移転を進めるとともに、共同国際会議の開催、現地検討会

などを通じた研究交流を行う。また、本課題を契機として日中における研究ネットワークの確立・持続的な発展を目指す。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

①土壌中の重金属動態

土壌に放出された重金属の土壌吸着性や残留性などの動態には、土壌粒径が密接に関係しており、特に粒径が小さくなるほど多くの重金属を吸着すると考えられている。しかし、粒径別に分けた土壌の大量分取は困難であるため、サブマイクロオーダーでの粒径と吸着能に関する知見はほとんど得られていない。ここでは、重金属を特異的に強く吸着する特性を持つ日本に特異的な黒ボク土と中国の低地土に連続遠心法の適用性を検証し、土壌の諸特性と重金属賦存量の関係を調べた。水田から採取した土壌を篩別後、純水を加えて攪拌し、懸濁状態にした。篩別法にて土壌粒径 $50\mu\text{m}$ 以下を、沈降法にて $3\mu\text{m}$ 以下を、連続遠心法にて 0.05 , 0.2 , 0.6 , $1\mu\text{m}$ 以下を各々分取し試料とした。各粒径毎に、重金属濃度、全炭素、比表面積、X線回折および選択溶解法による粘土鉱物組成解析を行った。その結果、粒径 $0.05\sim 50\mu\text{m}$ の範囲で、粒子が細粒なほど重金属含量が増加する傾向が認められ、特に黒ボク土では、最微細成分である粒径 $0.05\mu\text{m}$ 以下の画分で顕著な増加傾向を示した。このとき、粒子の比表面積、全炭素および比表面積と粒径の間には明確な傾向が認められず、これらの化学的特性は本現象の主要な要因ではないと推察される。一方、X線回折および選択溶解法によって、 $0.05\mu\text{m}$ 以下における非結晶性鉄含量の顕著な増加が示され、重金属含量の傾向と一致が認められた。以上のように、非結晶性鉄が持つ高い重金属吸着・保持能が、黒ボク土における重金属賦存量の粒径別傾向を大きく支配する要因となるとの新たな知見が得られた。本項目では中国の若手研究員が日本に滞在し、日本側の指導のもと、実験を遂行した。

②植物の重金属吸収過程の解析

本研究は、重金属集積植物であるセダム (*Sedum plumbizincicola*) の Cd 吸収や移行性に関わる他元素の影響を解析し、セダムによる Cd 浄化を促進させる元素を見つけ出すことを目的とした。異なる窒素形態を根に投与した場合、硝酸イオンはアンモニウムイオンに比べて Cd 吸収と地上部移行を促進させた。高濃度の亜鉛の添加 ($200\mu\text{M}$) は根から地上部への Cd 移行性を高めたが、高濃度の銅添加 ($50\mu\text{M}$) は Cd の地上部移行を完全に阻害した。ポジトロン放射性各種である ^{107}Cd を用いて、異なる窒素形態を根に投与した時のセダムの Cd 輸送動態をリアルタイムで観察した。硝酸イオンの添加により、根の Cd 吸収速度が高まり、地上部への素速い Cd 移行が見られた。一方、アンモニウムイオンの添加は、比較的低速度の Cd 吸収性を示し、それと平行するように、地上部への Cd 移行も低速度であった。このことから、セダムの Cd 吸収促進には硝酸イオンが有効であることが判明した。詳細なメカニズムについては、今後の課題である。本項目では中国の若手研究員が日本に滞在し、日本側の指導のもと、実験を遂行した。

③Cd 高吸収植物の吸収促進技術の開発

本研究では、②と同じくセダム (*Sedum plumbizincicola*) を用いて、各種資材を用いた土壌重金属の可溶性向上による重金属吸収促進技術の開発を目的とした。溶出促進資材として、慣行的に施用される有機物 (稲ワラ、クローバー粉末) や EDDS (生分解性キレート剤) を土壌に添加した後、ポット栽培試験を行った。栽培期間中に数回、ポットの根圏とバルク土壌の土壌溶液を採取し、播種後 2 ヶ月の植物体を収穫し、pH、溶存炭素、Cd、亜鉛、銅含量を測定した。EDDS 添加区では、栽培期間中に土壌溶液中の重金属濃度が大きく上昇し、重金属吸収促進には効果的であるが、下層への重金属溶脱などの環境影響が懸念された。一方、慣行有機物はマイルドではあるが持続的な重金属吸収促進効果が得られ、環境に優しく有効な手法であるとの新たな知見が得られた。なお、本項目は日本の若手研究員が中

国に滞在し、中国側の指導のもと研究を遂行した。

④有機ヒ素汚染土壌のバイオレメディエーション技術

土壌・木炭還流法 (Takagi et. al 2000) は土壌中に生息する POPs 等難分解性有機化合物分解細菌を迅速に集積・単離する手法で、2012 年現在までに 18 菌株 (L2406 株を含む) の単離に成功している。今回は中国側から提供された有機ヒ素高濃度汚染土壌が実際は汚染されていなかったため、新たな有機ヒ素分解菌の単離には至らなかった。しかし、これまでにすでに単離していた複数の分解菌株を集め細胞融合を行い、様々なパターンの有機ヒ素代謝部位の入った融合菌株の中から、新たな分解菌をスクリーニングする最新の手法「ゲノムシャッフリング」を適用した。その結果、有機ヒ素分解能が向上した新たな菌株を取得した。本手法を有機ヒ素分解菌に適用した事例はこれまでになく、分解菌の機能向上に寄与可能との新規知見で大きな成果が得られた。本項目では中国の若手研究員が日本に滞在し、日本側の指導のもと、実験を遂行した。なお、「ゲノムシャッフリング」に加え、土壌からのヒ素分解菌スクリーニング手法および土壌の濃硝酸抽出および抽出液の HPLC-ICPMS による有機ヒ素分析法に関する技術移転を行った。

6-2 人的交流の成果

前項の「研究成果の自己評価の根拠」に記載したように、本課題では日中相互に派遣した研究者とホスト研究者とが連携して研究を進め、成果を上げている。若手を中心とした派遣研究員の多くは、日本側、中国側ともに海外での滞在研究が未経験であった。日中それぞれのホスト研究員の指導のもと、相互の国で研究することは、貴重な体験であり、本課題は日中間の未来の研究交流につながる人材育成に大きな役割を果たしたと考えられる。以下に、本課題で実施した研究項目やイベントに基づいて、人材育成を進めた内容を記載する。

・土壌中の重金属動態では、中国から Haibo 研究員を滞在研究員として受け入れ、連続遠心分離法を用いた土壌粒子の粒径別分画を行い、粒径別の物理化学的特性と重金属賦存量との関係を解析した。Haibo 研究員は海外滞在のみならず海外出張が初の経験であり、日本滞在中では戸惑いも大きかったと思われる。滞在中は、研究の意義・目的、新たな研究手法の内容、得られた結果の解析などに関して、週に 1 度は討議を行った。研究成果もさることながら、日本側の研究の進め方や考え方が理解してもらえたと考えている。特に研究に対するインセンティブが日中で大きく異なることが、話し合いの過程で明らかとなった。滞在中に、長野県下の重金属汚染地と現地試験圃場を見学し、現場試験の実際を体験した。兵庫県農業試験場も見学し、県試験場でもレベルの高い機器がそろっていることに感銘を受けている様子であった。Haibo 研究員は 20 代の若手ながら、聡明で非常に優秀な人材であり、中国の環境研究分野において将来が期待される人物である。今回の滞在中、日中の相違を踏まえつつ相互理解を進めており、日中研究交流の将来に大きく寄与する人材が得られたと考えられる。

・植物の重金属吸収過程の解析では、同じく中国側の若手である Hu 研究員が日本に滞在して日本側の指導のもと、研究を実施した。Hu 研究員は Haibo 研究員よりさらに若く、博士卒直後に南京土壌研究所に採用となったばかりであった。また、Haibo 研究員と同様に、出張もふくめて今回が初の海外経験であった。Hu 研究員とも研究の意義・目的、新たな研究手法の内容、得られた結果の解析などに関して、頻繁に討議を行った。ただし、Hu 研究員は非常に若手ということもあり、研究打ち合わせの過程で中国側上司に逐一報告し、全てその指示に従うことが最優先という研究姿勢であった。このため、もちろん上司への報告は重要であるが、実験計画を自分で考え、遂行する事の大切さを指導することに留意した。短期間の滞在だが、研究の独創性の重要性を理解してもらえたと思われる。滞在中には、日本原子力研究機構・高崎研究所を往訪し、最新技術の ^{107}Cd を用いたポジトロンイメージングで Cd 高吸収植物「セダム」の移行蓄積過程を解析した。日本の最先端技術を目

のあたりにして、大きな期待を抱くとともに、セダム以外の他の植物への適用を考えるなど、今後の研究交流の可能性について考えを進めている様子であった。上述の Haibo 研究員と同様に Hu 研究員は将来が囑望される 20 代の新進気鋭の若手研究員である。将来的に日中の懸け橋となって研究交流を進めると期待される。

・Cd 高吸収植物の吸収促進技術の開発では、日本側の若手である赤羽任期付研究員が中国に滞在して、中国側の指導のもと、セダムの Cd 吸収促進技術に関する研究を進めた。赤羽研究員は海外出張経験を有するものの、海外滞在研究は初めての経験であり、本プロジェクトによる研究交流は貴重な機会となった。滞在期間中は、南京土壤研究所の実験施設の見学、セミナーへの参加を通して、研究所内の研究者や学生と意見交換を行った。Luo 教授や Wu 准教授とは研究の遂行に当たり、研究目的や結果解析などについて頻繁に討議を実施した。赤羽研究員は中国側の人的資源の豊富さと反面では一般実験器具の貧弱さを見て、日中間の研究環境の違いに驚いたようである。このように、本プロジェクトは、日本側の優秀な若手研究員が中国側の研究事情を知り、交流を深める非常に良い機会となっている。今後の日中研究交流を担う日本側の優秀な人材の一人が得られたと考えられる。

・有機ヒ素汚染土壌のバイオレメディエーション技術では、中国側の中堅研究員である Teng 准教授、Liu 研究員および若手研究者でポストドクターの Tu 研究員が日本に滞在し、日本側の指導のもと、研究を進めた。研究内容は、有機ヒ素分解菌の探索と分解能の向上である。今回は中国側から提供された有機ヒ素高濃度汚染土壌が非汚染土であったため、新たな有機ヒ素分解菌の単離には至らなかった。しかし、土壌が非汚染と判明した時点で、代替する研究手法として「ゲノムシャッフリング」を適用した。中国側の研究員は、研究が行き詰まりを見せた際の、日本側の研究の方向変更に対する柔軟性、研究内容の奥深さに感銘を受けたようである。特に Tu 研究員は Haibo 研究員や Hu 研究員と同様に、初の海外経験であり、数次にわたる研究討議を経て研究の方向性を変更していく過程は、結果として当初計画からの逸脱とはなってしまったが、非常に有益な体験となったようである。Teng 准教授、Liu 助教は中堅研究者としてすぐにでも日中研究交流の拡大に貢献できる人材であり、また Tu 研究員は有能な若手研究員として将来の日中研究交流において大いに活躍すると期待できる。

・国際会議やプロジェクトミーティングでは、若手研究員が英語による口頭発表の機会を得るように配慮して開催を進めた。具体的には、2009 年には中国でプロジェクトのキックオフミーティングを行うとともに、日本において国際ワークショップを開催した。2010 年には中国でプロジェクトミーティング、2011 年には中国で国際ワークショップ、日本でファイナルプロジェクトミーティングを開催した。これらの会議では、前述の研究員を含む多くの若手研究員が英語で口頭発表し、質疑応答を行った。また、それぞれの国際ワークショップでは準備段階から若手研究員が関与することで、例えば招へいの手続きにおける海外研究者とのやり取り、国際会議における進行管理など、今後、各自が国際会議を主催するうえで大いに勉強になったと考えられる。このように日中間をベースとした国際的な視野、経験を持つ人材を育成するうえで大きな成果が本プロジェクトにより得られている。国際会議の開催は、プロジェクト担当者以外の招へい・参加も多数あり、若手研究員にとって日中間を含む海外研究ネットワークの拡充にも大いに寄与した。

・研究機関の訪問・現地見学

上述の、日中それぞれで開催した会議前後において、南京土壤研究所以外の研究機関や現地見学を行った。日本においては、研究機関として東北大学農学部や栃木県農業試験場、日本原子力研究機構・高崎研究所、現地見学として兵庫県生野銀山資料館、兵庫県神崎郡現地 Cd 汚染圃場(ファイトリメディエーション実証圃場)、足尾銅山跡(足尾銅山資料館)、中国ではイネ研究所、南京農業大学校などを訪問した。研究所訪問では、研究の最前線に

いる研究者との討議を行い、良い研究交流の機会が持てた。若手研究員にも日中の研究所の内容や有害化学物質による汚染状況を知る良い機会となり、上述した日中間の将来の研究交流を担う若き人材の育成にも大きく寄与したと考えられる。

・今後の展開に関しては、研究所間で MOU を締結しているため、南京土壤研究所との研究交流の基盤、受け皿は確立している。また、農業環境技術研究所では The Monsoon Asia Agro-Environmental Research Consortium (MARCO: モンスーンアジア農業環境研究コンソーシアム; http://www.niaes.affrc.go.jp/marco/index_j.html) を推進し、中国を含むモンスーンアジア各国との共同研究・研究交流を強力に推進している。日中における今後の研究交流も、MARCO の下で南京土壤研究所を中核交流拠点の一つに位置付け発展させていく予定である。

7. 主な論文発表・特許等（5 件以内）

論文 or 特許	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	備考
論文	Wu L, Li Z, Akahane I, Liu L, Han C, Makino T, Luo Y, Christie P. Effects of organic amendments on Cd, Zn and Cu bioavailability in soil with repeated phytoremediation by <i>Sedum plumbizincicola</i> , <i>International Journal of Phytoremediation</i> , 印刷中	共著
論文	Arao T, Maejima Y, Baba K. Reduction in uptake by rice and soybean of aromatic arsenicals from diphenylarsinic acid contaminated soil amended with activated charcoal, <i>Environmental Pollution</i> 159, 2449-2453, 2011	
論文	Arao, T., Ishikawa S, Murakami M, Abe K, Maejima Y, Makino T. Heavy metal contamination of agricultural soil and countermeasures in Japan, <i>Paddy and Water Environment</i> , 8, 247-257, 2010	
論文	Harada N, Takagi K, Baba K, Iwasaki A. Biodegradation of diphenylarsinic acid to arsenic acid by novel soil bacteria isolated from contaminated soil, <i>Biodegradation</i> , 21,491-499, 2010	
論文	Arao T, Maejima Y, Baba K. Uptake of aromatic arsenicals from soil contaminated with diphenylarsinic acid by rice, <i>ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY</i> , 43, 1097-1101, 2009	