

### 第3章 土壤の微生物活性及び植物生育からみた土壤の重金属許容量

#### 第1節 緒言

第2章の結果から、土壤微生物活性への影響は土壤中の水溶性重金属量、及びその金属固有の微生物に対する毒性と関連していると考えられた。それでは、土壤中の水溶性重金属濃度がどのくらいになると、微生物活性が影響を受けるのであろうか。土壤が正常な物質循環機能を維持するように保全していく上でこのような許容量を明らかにしておくことは重要である。土壤中の重金属濃度と微生物活性との関係については、これまでに、土壤に重金属を添加して、活性との関係が調べられている<sup>1)</sup><sup>2)</sup>。しかし、それらの関係は土壤によって異なり、例えば、泥炭地土壤では $PbCl_2$ を $7500\text{mg kg}^{-1}$ 添加しても土壤呼吸量は全く低下しないのに対して、砂質土では $750\text{mg kg}^{-1}$ の添加で対照土の65%まで低下している<sup>1)</sup>。このように、土壤によって影響が異なるのは、土壤の性質、特にCEC<sup>1)</sup>、pH、塩基飽和度、有機物の質と量、粘土含量など<sup>3)</sup>の違いによると考えられ、実際に、土壤に粘土や腐植を添加すると、微生物やその活性への重金属の影響が軽減されることが報告されている<sup>4-6)</sup>。これらのことから、土壤中での重金属の形態、特に、可給性(bioavailable)量の重要性が指摘されている<sup>1)</sup>が、これまでのところ土壤中の可給性の重金属量と微生物活性の関係を調べた例は少ない<sup>7) 8)</sup>。

また、現地の汚染土壤でも、汚染源である精錬所からの距離が異なる地点での微生物活性が調べられ、土壤中の重金属含量の対数値に比例して、土壤呼吸量や酵素活性が低下することが報告されている<sup>9) 10)</sup>。これらの研究でも、土壤中の重金属の全量と微生物活性との関係が調べられ、可給性の重金属量との関係は調べられていない。

一方、植物に関しては、植物が吸収しうる土壤中の可給性重金属量を評価するため、さまざまな抽出剤が用いられ、抽出量と吸収量の関係が調べられている<sup>11)</sup>。しかし、植物に障害の起こるような高濃度域での研究は少なく、抽出濃度と生育や害症状との関係はほとんどわかっていない<sup>12)</sup>。また、土壤を重金属汚染から保全していく上で、微生物活性と植物生育とどちらが重金属に対してより感受性が高いのかを明らかにしておくことも必要と考えるが、そのような情報も少ない<sup>13)</sup>。

以上のことを考慮して、本章では、第2章で土壤微生物活性への影響が最も大きいことが認められたCdと、汚泥中の含量が最も多いZnについて、土壤中の濃度（特に可給性量）と微生物活性及び微生物数との関係を5種類の土壤で調べ、土壤微生物活性からみた土壤のCd及びZnの許容量を明らかにすることを試みた。

また、同時に植物（小麦）の生育と土壤中のCd量及びZn量との関係から、植物の生育からみた許容量を調べ、土壤微生物活性への許容量と比較した。

## 第2節 土壤中のカドミウム濃度と微生物活性

### 1. 実験方法

#### (1) 供試土壤と供試汚泥

川砂、砂質土、沖積土、淡色黒ボク土、黒ボク土の5種類の土壤を実験に用いた。これらの土壤の主な性質を表3-1に示した。川砂は、本試験に用いる前に屋外ライシメーター試験<sup>1,4)</sup>で消石灰を連用していたため、土壤pHが高くなっている。砂質土、淡色黒ボク土は第2章で用いたのと同じ土壤、沖積土は水田の表層から採取した土壤、黒ボク土は畑の表土から採取した土壤である。全炭素量、全窒素量、粘土含量は土壤間で大きく異なり、CECも土壤間で大きく異なっていた。これらの土壤は風乾後、2mmのふるいを通して実験に供試した。

汚泥は、高分子凝集剤を用いた生活廃水由来の汚泥を嫌氣的に消化処理を行ったもの（D汚泥）を使用した。

#### (2) 培養試験

各土壤20g（乾土重）を300ml容スチロール瓶にとった。各土壤について、添加Cd濃度が0、0.1、0.3、1.0、3.0、10.0、30.0mmol kg<sup>-1</sup>になるようにCdCl<sub>2</sub>溶液を添加した。また、塩素の影響を相殺するため、全処理区ともCl<sup>-</sup>濃度が60mmol kg<sup>-1</sup>になるようにCaCl<sub>2</sub>溶液を加え、さらに、最大容水量の60%になるように水を加えて十分に混合した。その1日後に各土壤に乾土重当たり汚泥を土壤の2%添加混合後、密封して28℃で8週間培養した。各土壤に、汚泥無添加でCdCl<sub>2</sub>及びCaCl<sub>2</sub>だけを30mmol kg<sup>-1</sup>添



表 3-1 供試土壌と供試汚泥の性質

土壌	pH	全炭素 (g kg <sup>-1</sup> )	全窒素 (g kg <sup>-1</sup> )	砂 (%)	シルト (%)	粘土 (%)	CEC (cmol(+) kg <sup>-1</sup> )
川砂	8.5	0.7	0.1	99.7	0.1	0.2	3.2
砂質土	5.8	4.8	0.5	96.4	1.3	2.2	4.4
沖積土	6.2	5.1	0.6	44.6	36.4	19.0	12.1
淡色黒ボク土	6.4	31.7	2.6	36.3	36.1	27.6	19.0
黒ボク土	5.5	72.0	4.8	40.1	31.2	28.7	29.4
汚泥	6.1	329	44				

加し、水分を最大容水量の60%にした場合についても同様に培養した。  
0.5M NaOH液を入れた5ml容サンプルカップを瓶中に置き、発生するCO<sub>2</sub>を吸収させ、その量を経時的に0.2M HCl溶液で滴定して測定した<sup>15)</sup>。

また、8週後に各土壌中の無機態窒素量(NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N)、各種抽出剤で抽出されるCd量、微生物数、酵素活性、及び土壌pHを測定した。

### (3) 化学分析

土壌pHは、土壌に2.5倍量の水を加え攪拌後、ガラス電極pHメーター(Corning, M-125型)で測定した<sup>16)</sup>。

土壌中の無機態窒素は、土壌5gに10% KCl液50mlを加え30分間振とう後<sup>17)</sup>ろ過し、ろ液中のNH<sub>4</sub>-N及びNO<sub>3</sub>-N量をオートアナライザーで測定した<sup>18)19)</sup>。

土壌中のCd量は、土壌1gに50mlの水、1M 酢酸アンモニウム、0.2M ピロリン酸ナトリウム(Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)、0.1M HCl液をそれぞれ加え、8時間振とう後ろ過し、ろ液中のCd量を測定した<sup>20)</sup>。測定は、溶液中の濃度が約0.1mg L<sup>-1</sup>以上のときは、フレイム原子吸光光度計で、それ以下のときはフレイムレス原子吸光光度計で行った。

### (4) 微生物数及び酵素活性の測定

土壌中の細菌数、放線菌数、糸状菌数を、第1章、第2節に示した希釈平板法<sup>21)</sup>で測定した。細菌、放線菌は、アルブミン寒天培地<sup>22)</sup>を用い、28℃で1週間培養後コロニー数を計数した。糸状菌数は、ローズベンガル寒天培地<sup>23)</sup>を用い、25℃で4日間培養後コロニー数を計数した。

土壌酵素活性は、Cdを0、0.3、3、30mmol kg<sup>-1</sup>添加した土壌についてProteaseとβ-Glucosidase活性を測定した。測定法は第1章、第2節に示したとおりで、Proteaseはカゼイン<sup>24)</sup>を、β-Glucosidaseはp-nitrophenyl-β-D-glucoside<sup>25)</sup>を基質として測定した。

## 2. 結果と考察

### (1) 土壌への添加Cd量と炭素及び窒素の無機化量との関係

図3-1に汚泥と種々の濃度のCdを添加した淡色黒ボク土からのCO<sub>2</sub>発生量を示した。Cdを0.1mmol kg<sup>-1</sup>添加した土壌でもCO<sub>2</sub>発生量はわずかなが



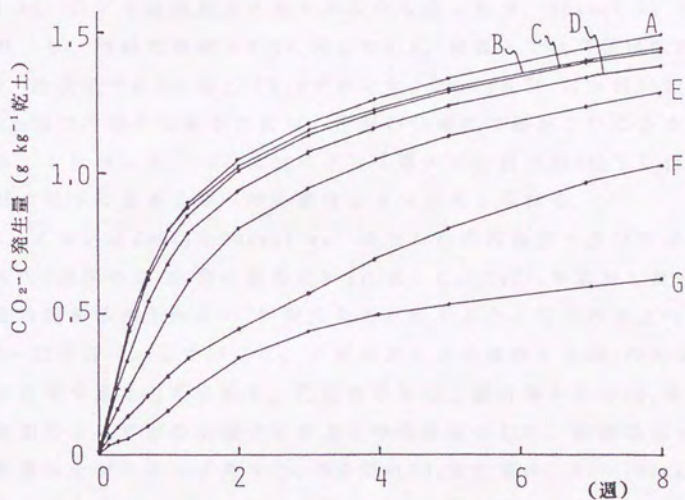


図 3-1 カドミウムを添加した土壌から発生する二酸化炭素量

Cd添加量: A, 0.0; B, 0.1; C, 0.3; D, 1.0; E, 3.0  
F, 10.0; G, 30.0 mmol kg<sup>-1</sup> 乾土

ら減少した。Cd濃度が増加するとCO<sub>2</sub>発生量はさらに減少した。Cd添加量が3mmol kg<sup>-1</sup>以下では、対照土に比べて最初の1週間のCO<sub>2</sub>発生量が少なかったが、2週目以降の発生量は対照土とほとんど変わらなかった。一方、Cd添加量が10mmol kg<sup>-1</sup>以上のときは、培養期間を通して、対照土の発生量より少なかった。他の土壌でも同様の結果が得られた。

淡色黒ボク土と黒ボク土の8週後の土壌pHは、Cd添加土と対照土でほとんど差がみられなかった。川砂、砂質土、沖積土でも、Cd添加量が、3mmol kg<sup>-1</sup>以下では対照土と差がみられなかったが、30mmol kg<sup>-1</sup>ではかなり低下し、川砂で対照土7.5に対して6.5、砂質土では同様に6.9に対して5.8、沖積土で6.7に対して5.9であった。Terryら<sup>26)</sup>はpH5.3、6.0、7.5の土壌で汚泥の分解を比較し、汚泥の分解性に差がないことを報告している。したがって、Cdの添加によって最大でpHが約1低下したが、このpHの低下による分解への影響は小さいと考えられる。

CdCl<sub>2</sub>あるいはCaCl<sub>2</sub>を30mmol kg<sup>-1</sup>添加した汚泥添加土及び汚泥無添加土からの8週間の全CO<sub>2</sub>発生量を表3-2に示した。CaCl<sub>2</sub>を添加した汚泥添加土と汚泥無添加土からのCO<sub>2</sub>発生量を比較すると、汚泥添加土の発生量が3.7~22倍高く、したがって、汚泥添加土から発生するCO<sub>2</sub>の大部分は汚泥に由来すると考えられる。汚泥無添加の土壌自体からのCO<sub>2</sub>発生量は、Cdの添加によってどの土壌でもおよそ半分に減少した。汚泥添加土では、Cdの影響は土壌によって異なり、8週間のCO<sub>2</sub>発生量は、61~763mg kg<sup>-1</sup>と大きくばらついた。これは、土壌間の有機物の量や質の違いによるのではなく、土壌によって汚泥の分解へのCdの影響が異なるためと考えられる。

土壌中での炭素、窒素の無機化へのCdの影響を土壌間で比較するために、汚泥添加土壌での8週間の炭素、窒素の無機化量を対照土の無機化量に対する相対値で比較した(図3-2)。添加するCd量が増加するにつれて、炭素の無機化量は減少した。特に、Cd 10mmol kg<sup>-1</sup>以上で減少量が大きかった。土壌間では、川砂でCdの影響が最も大きく、30mmol kg<sup>-1</sup>では、炭素無機化量はごくわずかであったのに対して、黒ボク土、淡色黒ボク土での炭素無機化量は、対照土の約半分であった。CdによるCO<sub>2</sub>発生阻害の土壌間差は、土壌の有機物含量や粘土含量に関連していると考えられ、Doelmanら<sup>27)</sup>は、Cdによる阻害を軽減する土壌の主要因は、主成分分析の



表 3-2 塩化カドミウム及び塩化カルシウムを $30\text{mmol kg}^{-1}$ 乾土  
添加した土壌から8週間で発生する二酸化炭素量

土壌	汚泥添加		汚泥無添加	
	$\text{CaCl}_2$	$\text{CdCl}_2$	$\text{CaCl}_2$	$\text{CdCl}_2$
	CO <sub>2</sub> -C量 (mg kg <sup>-1</sup> 乾土)			
川 砂	1306	61	65	23
砂質土	1566	145	159	78
沖積土	1297	262	60	38
淡色黒ボク土	1505	633	329	140
黒ボク土	1494	763	399	191

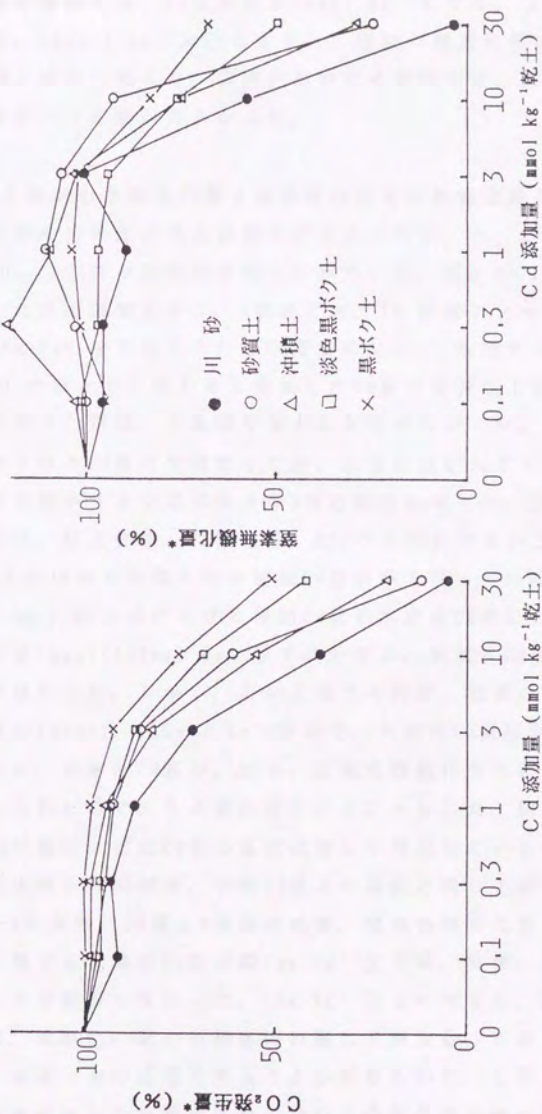


図3-2 カドミウム添加量と8週間の炭素及び窒素の無機化量との関係

\*対照土 (Cd無添加土) の無機化量に対する%



結果、粘土含量であると結論した。

窒素の無機化は、Cd添加量が $3\text{mmol kg}^{-1}$ までは、ほとんど阻害されなかった。 $10\text{mmol kg}^{-1}$ 以上になると、窒素の無機化量は減少し、炭素の場合と同じ傾向にあった。窒素の無機化も有機物量、粘土含量の少ない川砂、砂質土で影響が大きかった。

## (2) 土壌中の水溶性Cd量と炭素及び窒素の無機化量との関係

土壌中の可給性の重金属量を評価するため、水、酢酸アンモニウム、 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 、 $\text{HCl}$ 等の抽出剤が用いられている。図3-3に、Cdを $30\text{mmol kg}^{-1}$ 添加した汚泥添加土から、8週後に水、 $1\text{M}$  酢酸アンモニウム、 $0.1\text{M}$   $\text{HCl}$ 、 $0.2\text{M}$   $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 液で抽出されるCd量を示した。酢酸アンモニウム、 $\text{HCl}$ 、 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ではどの土壌からも添加したCd量の半分以上が抽出され、 $\text{HCl}$ で抽出されるCd量は、土壌間でほとんど差がなかった。これに対して、水で抽出されるCd量は少量だったが、土壌間差が大きく、川砂や砂質土では、淡色黒ボク土や黒ボク土の5倍近い値になった。土壌中での重金属の吸着には、粘土含量、有機物量、CECの寄与が大きいと考えられ<sup>27)</sup>、CECの小さい川砂や砂質土の水溶性Cd量が多くなっている。

表3-3に、各土壌における添加Cd量と水溶性Cd量との関係を示した。添加Cd量が $1\text{mmol}(112\text{mg})\text{ kg}^{-1}$ 以下のときは、水溶性Cd量は、 $2.8\text{mg kg}^{-1}$ 以下と少量だった。しかし、どの土壌でも炭素、窒素の無機化が大きく阻害された $10\text{mmol}(1120\text{mg})\text{ kg}^{-1}$ 添加で、水溶性Cd量は著しく増加した。このように、水溶性Cd量が、炭素、窒素の無機化の阻害と最も関係があると考えられたので、その量に注目することにした。他の抽出剤で抽出されるCdの量は、添加Cd量にほぼ比例して増加しているので、炭素、窒素の無機化量との関係は、添加Cd量との関係と同じと考えられる。

図3-4に水溶性Cd量と8週間の炭素、窒素の無機化量との関係を示した。どの土壌でも水溶性Cd量が約 $1\text{mg kg}^{-1}$ までは、炭素、窒素の無機化量ともほとんど減少しなかった。 $1\text{mg kg}^{-1}$ 以上になると、炭素、窒素の無機化量は、水溶性Cd量の対数値に比例して減少し、しかも土壌の種類によらず、ほぼ一本の直線に乗ることが認められた。これまでに、汚染源である精錬所からの距離の異なる地点での微生物活性が調べられ、土壌呼吸量は土壌中の重金属含量(全量)の対数値に比例して低下することが

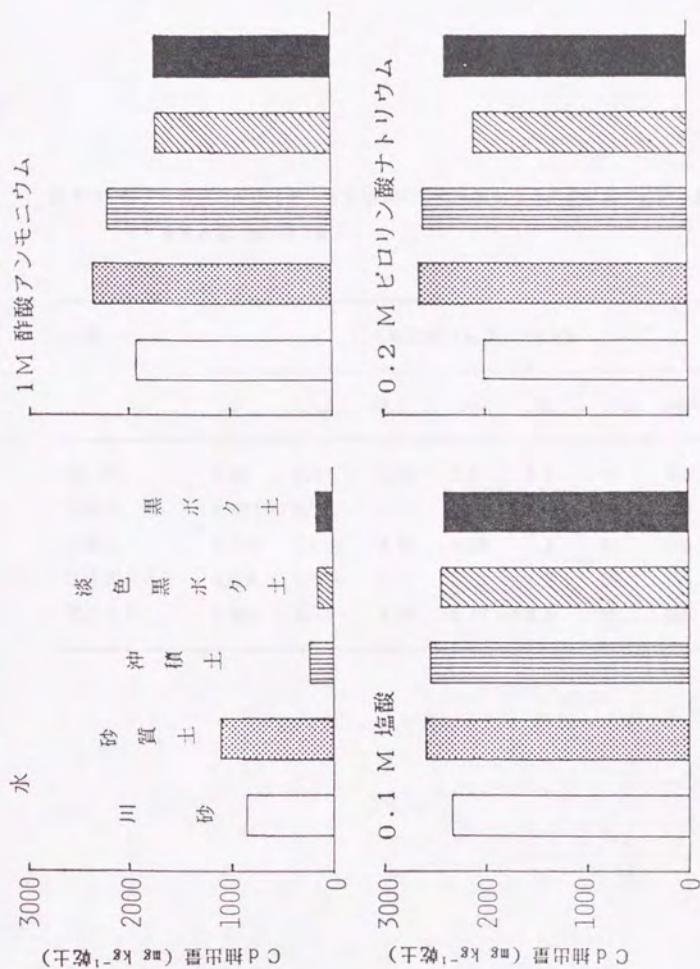


図 3-3 カドミウムを30mmol (3372mg) kg<sup>-1</sup>乾土添加した土壌から  
各試薬で抽出されるカドミウム量



表 3-3 種々の濃度の塩化カドミウムを添加した土壌から8週後に水で抽出される  
カドミウム量 ( $\text{mg kg}^{-1}$  乾土)

土壌	Cd 添加量 ( $\text{mg kg}^{-1}$ 乾土)						
	0	11.2	33.7	112	337	1120	3370
川 砂	0.24	0.31	0.96	2.8	6.2	94	860
砂質土	0.027	0.13	0.71	2.2	8.2	89	1100
沖積土	0.002	0.025	0.22	0.78	1.9	85	300
淡色黒ボク土	0.035	0.045	0.21	0.52	4.8	25	190
黒ボク土	0.004	0.13	0.25	0.67	4.3	29	200

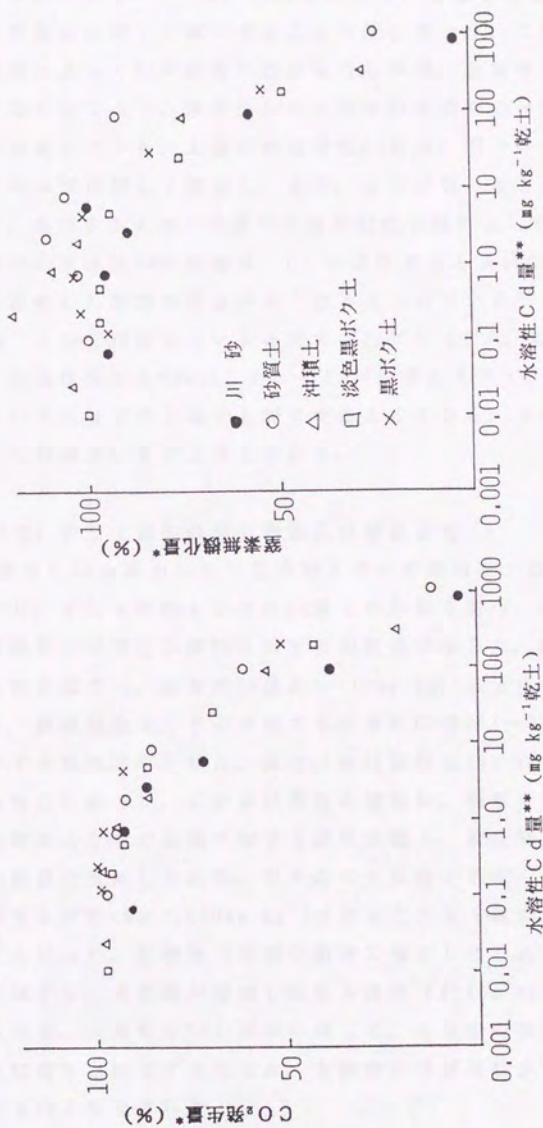


図3-4 土壌中の水溶性カドミウム量と8週間の炭素及び窒素の無機化量との関係

\*対照土 (Cd無添加土) の無機化量に対する%

\*\*対照土との差



報告されている<sup>29)10)</sup>が、本節の結果は、土壌の種類によらず水溶性Cd量の対数値に比例して減少することを示している。これらの結果は、土壌の種類によってCdの影響に差が生じるのは、土壌中の水溶性Cd量に差が生じるためであり、水溶性Cdが土壌中の有機物の分解を阻害していることを示唆している。土壌中の水溶性Cd量は、同一の土壌では土壌中の全Cd量にほぼ比例して増加し、また、pHが低いときほど多くなる<sup>28)</sup>。さらに、共存するイオン濃度や有機性配位子量によっても影響される<sup>29)</sup>。土壌中の水溶性Cdの形態は、Cl<sup>-</sup>が共存するときはCdCl<sub>3</sub><sup>-</sup>やCdCl<sub>4</sub><sup>2-</sup>などClと結合した形態の割合が高くなるとされている<sup>30)</sup>が、一般には約70%はCd<sup>2+</sup>として存在していると考えられている<sup>31)</sup>。本実験で用いた土壌には、全処理区とも60mmol kg<sup>-1</sup>のCl<sup>-</sup>が添加されて、多量のCl<sup>-</sup>が共存するという点はどの土壌でも同じであることから、土壌間で水溶性Cdの形態に大差はないものと考えられる。

### (3) Cd 添加土壌中の微生物数及び酵素活性

8週後にCdを添加した汚泥添加土壌中の細菌数、放線菌数、糸状菌数を測定し、それらの数と水溶性Cd量との関係を調べ、図3-5に示した。図は、Cd無添加の対照土の菌数に対する相対値で示した。細菌数は、黒ボク土以外の土壌では、水溶性Cd量が1~10mg kg<sup>-1</sup>以上になると減少傾向にあった。放線菌数は、どの土壌でも水溶性Cd量が1~10mg kg<sup>-1</sup>を越えると減少する傾向がみられた。逆に、糸状菌数は1mg kg<sup>-1</sup>以上になると増加する傾向にあった。この糸状菌数の増加は、前章で示したように、糸状菌が細菌よりも重金属に対する耐性が強く、重金属が土壌生態系へ何らかの影響を及ぼした結果、引き起こされたと考えられる。しかし、糸状菌数も水溶性Cdが1,000mg kg<sup>-1</sup>になると大きく減少して、対照土の1/10以下となった。有機物の分解が顕著に減少しはじめるのは、細菌や放線菌が減少し、糸状菌が増加し始める濃度(約1mg kg<sup>-1</sup>)にほぼ対応しているので、水溶性のCdの増加に伴って、土壌中の菌相が細菌、放線菌から糸状菌へと変化することが、有機物の分解が減少することと関係しているものと推定される。

沖積土、淡色黒ボク土及び黒ボク土の8週後のβ-Glucosidase活性は、Cd 30mmol kg<sup>-1</sup>添加した土壌で対照土より約5倍高かった(表3-4)。川

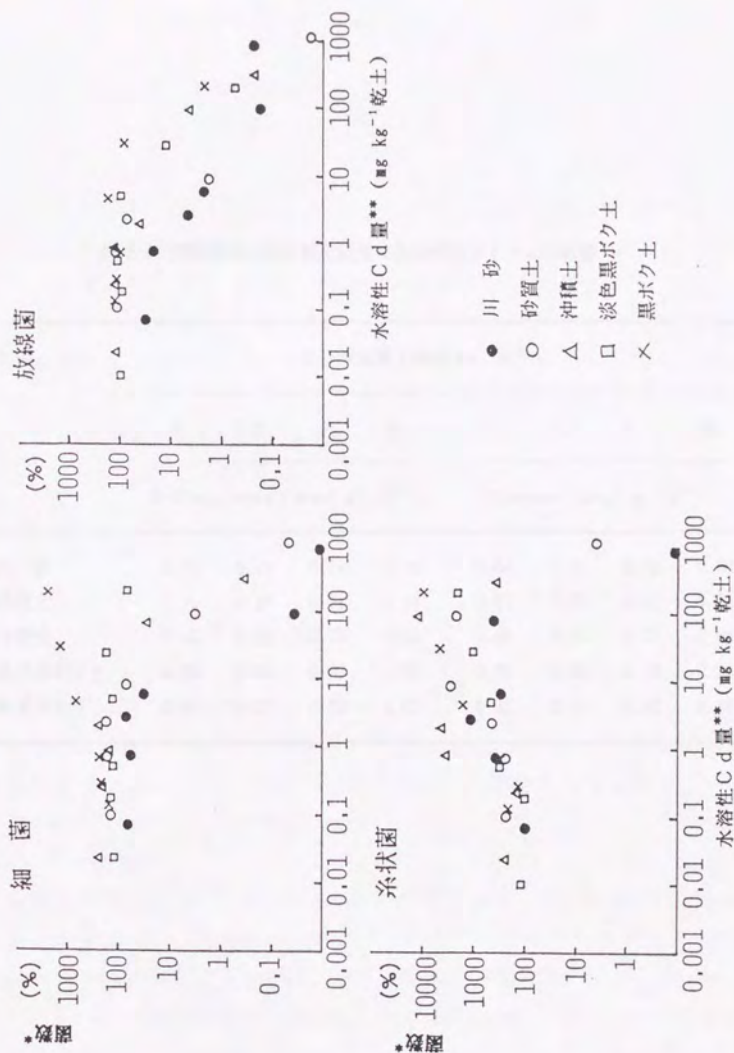


図3-5 土壌中の水溶性カドミウム量と微生物数との関係

\*対照土 (Cd無添加土) の菌数に対する%

\*\*対照土との差



表 3-4 汚泥添加土壌の酵素活性に及ぼすカドミウムの影響

土壌	Cd 添加量 ( $\text{mmol kg}^{-1}$ 乾土)							
	0	0.3	3	30	0	0.3	3	30
	$\beta$ -Glucosidase ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ )				Protease ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ )			
川 砂	0.06	0.11	0.74	0.00	0.34	0.51	0.18	0.00
砂質土	0.10	0.18	0.91	0.10	0.37	0.36	0.41	0.20
沖積土	0.10	0.21	0.78	0.62	0.66	0.58	0.63	0.08
淡色黒ボク土	0.30	0.35	0.30	1.87	0.26	0.24	0.18	0.22
黒ボク土	0.23	0.27	0.32	1.02	0.32	0.18	0.18	0.16

砂と砂質土では、Cd  $0.3$ 、 $3\text{mmol kg}^{-1}$ の添加で $\beta$ -Glucosidase活性は対照土より高くなったが、 $30\text{mmol kg}^{-1}$ の添加で大きく減少した。これらのCdの添加に伴う $\beta$ -Glucosidase活性の変化は糸状菌数の変化に類似していた。土壌の $\beta$ -Glucosidase活性は、主に糸状菌に由来すると考えられるので<sup>32)</sup>、Cdの添加に伴う $\beta$ -Glucosidase活性の増加は、糸状菌の増加によるものと考えられる。一方、Protease活性は、添加Cdの量が増加すると減少する傾向にあった。Protease活性は、第1章、第2節に示したとおり、土壌中の細菌数、汚泥中の炭素、窒素の土壌中での無機化速度と高い相関があることから、Cdの添加によるProtease活性の減少は、細菌数の減少と関連があると考えられる。このように、Cdの添加による土壌微生物数の変化は、土壌酵素活性も変化させると考えられる。

以上の結果から、Cdによる土壌微生物活性の低下は、水溶性Cdが土壌微生物相、酵素活性を変化させた結果生じると考えられ、土壌微生物活性からみた土壌のCdの許容量は、土壌の種類によらず、水溶性Cdとして約 $1\text{mg kg}^{-1}$ と推定された。

### 第3節 土壌中の亜鉛濃度と微生物活性

#### 1. 実験方法

##### (1) 供試土壌と供試汚泥

第2節と同じく、川砂、砂質土、沖積土、淡色黒ボク土、黒ボク土の5種類の土壌を用いた。汚泥も第2節と同様、D汚泥を用いた。

##### (2) 培養試験

川砂、砂質土、沖積土、淡色黒ボク土、黒ボク土の5種類の土壌20g（乾土重）を300ml容スチロール瓶にとり、各土壌それぞれに、土壌への添加Zn量が、1kg乾土あたり0、0.1、0.3、1.0、3.0、10.0、30.0mmolになるように、 $\text{ZnSO}_4$ 溶液を添加し、さらに最大容水量の60%になるように水を加えて混合した。その3日後に汚泥を土壌の2%量添加混合して、28℃で8週間培養した。この間の $\text{CO}_2$ 発生量、8週後の土壌中の微生物数、水溶性Zn量を調べた。それらの測定法は、第2節と同じであった。



## 2. 結果と考察

図3-6に、添加Zn濃度と8週間の $\text{CO}_2$ 発生量との関係を示した。各土壌ともZn無添加の対照土の $\text{CO}_2$ 発生量を100として相対値で示した。川砂では、Zn添加量が $1\text{mmol kg}^{-1}$ 以上、砂質土では $3\text{mmol kg}^{-1}$ 以上で $\text{CO}_2$ 発生量は減少したが、他の3種類の土壌では、 $30\text{mmol kg}^{-1}$ でわずかに減少するのみだった。前節のCdの影響と比較すると各土壌とも特に $3\text{mmol kg}^{-1}$ 以上の多量添加時の影響がZnのほうが明らかに小さかった。

表3-5に8週後に各土壌から水で抽出されるZn量を示した。水で抽出されるZn量は、川砂、砂質土では、Zn添加量が $10\text{mmol}(654\text{mg})\text{kg}^{-1}$ 以上で大きく増加し、沖積土、淡色黒ボク土、黒ボク土では、 $30\text{mmol}(1961\text{mg})\text{kg}^{-1}$ の添加量で増加した。Cd(表3-4)と比較すると、Znの方が多量添加時の水溶性量は少なく、土壌に吸着されやすいことを示している。

Znについても水溶性量と $\text{CO}_2$ 発生量の関係を調べた(図3-7)。水溶性Zn量と $\text{CO}_2$ 発生量との関係はCdのときほど明瞭でなく、土壌によってばらついた。川砂では、水溶性Zn量が $1\text{mg kg}^{-1}$ 以下でも $\text{CO}_2$ 発生量は減少する傾向にあった。川砂以外の土壌では水溶性Zn量が $1\sim 10\text{mg kg}^{-1}$ 以上になると $\text{CO}_2$ 発生量は減少する傾向にあったが、 $1\text{mg kg}^{-1}$ 以上のときの $\text{CO}_2$ 発生量の低下は土壌によって異なり、黒ボク土及び淡色黒ボク土では $10\text{mg kg}^{-1}$ 以上でも対照土の90%以上の発生量があったのに対して、砂質土では $10\text{mg kg}^{-1}$ 以下で80%以下に減少した。しかし、川砂以外の土壌では、Cdと同じように水溶性Zn量が約 $1\sim 10\text{mmol kg}^{-1}$ 以上になると、 $\text{CO}_2$ 発生量が低下するという点では一致した。川砂の微生物活性が、水溶性Znに対して感受性が高かった原因は不明であるが、この土壌のpHが高かったことによるかもしれない。また、水溶性Znと $\text{CO}_2$ 発生量の関係がCdの場合ほど明確でなかったのは、ZnがCdほど土壌細菌に対して毒性が強くなく、影響が出にくかったためかもしれない。

水溶性Zn量と微生物数との関係をみると、細菌数は、水溶性Znが増加しても、どの土壌でも大きな変化はみられなかった(図3-8)。一方、放線菌数は、どの土壌でも水溶性亜鉛の増加に伴って減少し、糸状菌数は増加した。放線菌数が大きく減少しはじめる水溶性Znの濃度は、約 $1\text{mg kg}^{-1}$ 乾土以上で、糸状菌数が大きく増加しはじめる濃度も約 $1\text{mg kg}^{-1}$ であった。一般に、細菌より放線菌の方が重金属に対する耐性が強いと言

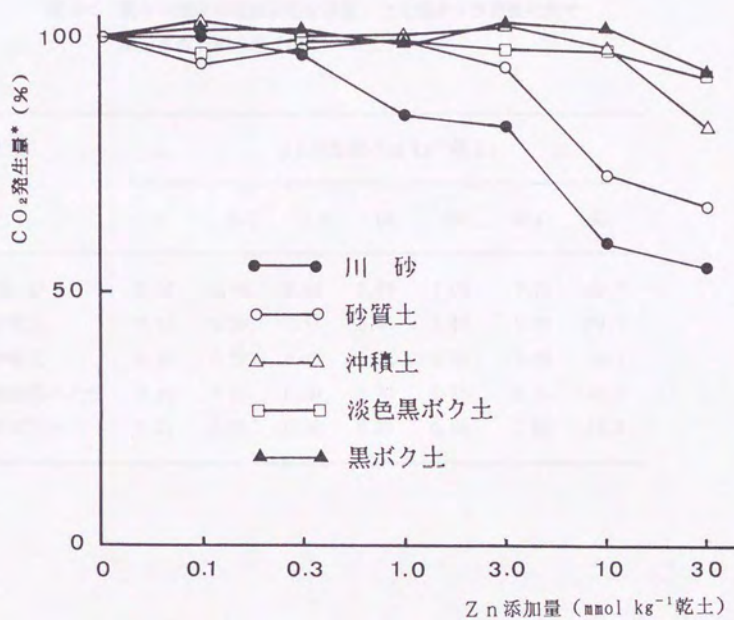


図3-6 亜鉛添加量と8週間の二酸化炭素発生量との関係

\*対照土 (Zn無添加土) の発生量に対する%



表 3-5 種々の濃度の硫酸亜鉛を添加した土壌から8週後に水で  
抽出される亜鉛量 ( $\text{mg kg}^{-1}$  乾土)

土壌	Zn添加量 ( $\text{mg kg}^{-1}$ 乾土)						
	0	6.5	19.6	65	196	654	1961
川 砂	0.46	0.48	0.46	0.68	1.00	7.75	148.7
砂質土	0.31	0.36	0.71	0.85	1.40	6.70	174.0
沖積土	0.16	0.22	0.19	0.22	0.30	1.19	75.1
淡色黒ボク土	0.19	0.21	0.20	0.30	0.28	0.74	42.2
黒ボク土	0.21	0.28	0.28	0.30	0.36	2.50	56.5

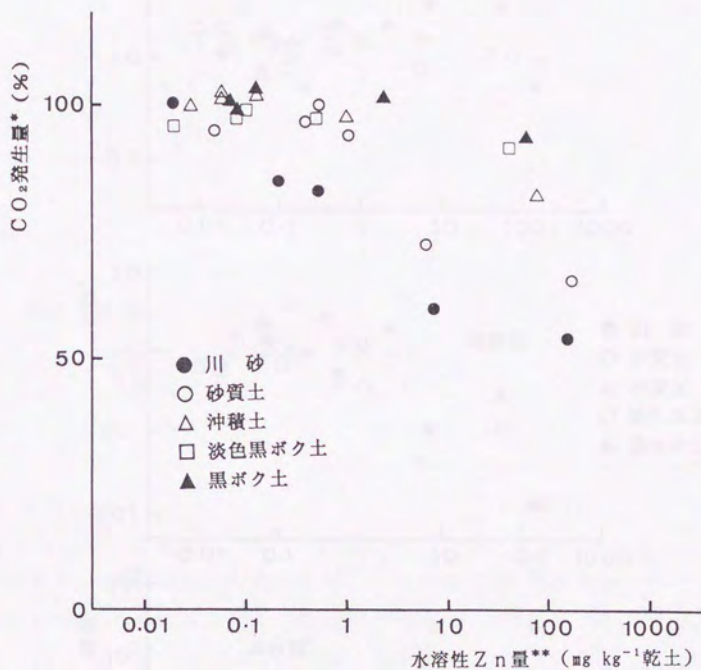


図3-7 土壌中の水溶性亜鉛量と8週間の二酸化炭素発生量との関係

\*対照土 (Zn無添加土) の発生量に対する%

\*\*対照土との差

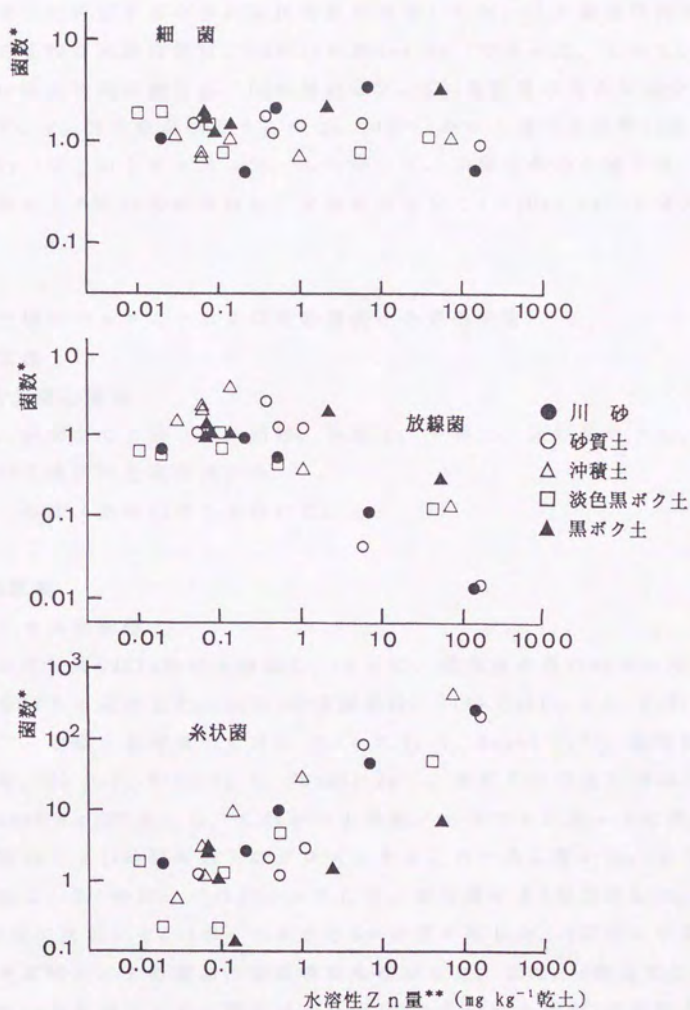


図3-8 土壌中の水溶性亜鉛量と微生物数との関係

\*対照土 (Zn無添加土) の菌数に対する相対値

\*\*対照土との差



われている<sup>33)34)</sup>が、本実験では、全菌数でみる限り放線菌がCd及びZnに対して最も感受性が高く、水溶性金属量の増加に伴って大きく減少した。その減少に対応するように糸状菌数が増加したが、この微生物相の変化が起こる時の水溶性量は、CdもZnも約 $1\text{mg kg}^{-1}$ であった。しかし、Znの場合は微生物相の変化が、Cdの場合ほど、 $\text{CO}_2$ 発生量の大きな減少に結びつかず、 $\text{CO}_2$ 発生量が減少するのは、川砂以外の土壌で水溶性Zn量が $1\sim 10\text{mg kg}^{-1}$ 以上のときであった。したがって、川砂以外の土壌では、微生物活性からみたZnの許容量は、水溶性量として $1\sim 10\text{mg kg}^{-1}$ と考えられる。

#### 第4節 土壌中のカドミウム及び亜鉛濃度と小麦の生育

##### 1. 実験方法

###### (1) 供試土壌と植物

土壌は、前節までと同じく、川砂、砂質土、沖積土、淡色黒ボク土、黒ボク土の5種類の土壌を用いた。

植物は、小麦（農林61号）を用いた。

###### (2) 栽培試験

###### ① カドミウムの影響

5種類の土壌に $\text{CdCl}_2$ 溶液を添加し、さらに、最大容水量の60%になるように水を加えて混合した。 $\text{CdCl}_2$ の添加量は、川砂では0、0.1、0.3、 $1\text{mmol kg}^{-1}$ 、砂質土と沖積土では0、0.1、0.3、1、 $3\text{mmol kg}^{-1}$ 、淡色黒ボク土では、0、0.1、0.3、1、3、 $10\text{mmol kg}^{-1}$ 、黒ボク土では0、0.3、1、3、 $10\text{mmol kg}^{-1}$ であった。これらの土壌をノイバウエルポットに詰め、昼 $25^\circ\text{C}$ 、夜 $20^\circ\text{C}$ （12時間周期）のグロースチャンバー内に置いた。水分は毎日供給し、9日後に一つのポットあたり小麦の種子を8粒播種した。播種後7日目に間引いて、1ポットあたり5つの芽を残した。4週目に小麦の地上部を切り取り、その草丈、新鮮物重を測定した。また、4週目に土壌中の水溶性Cd量を測定した。測定は、土壌10gに水50mlを加え1時間振とう後ろ過し、ろ液のCd量を原子吸光光度計で測定して行った。実験は3連で行い、結果はその平均値で示した。

###### ② 亜鉛の影響

①と同様、5種類の土壌に $\text{ZnSO}_4$ 溶液を添加し、さらに、最大容水量の60%になるように水を加えて混合した。 $\text{ZnSO}_4$ の添加量は、川砂と砂質土では0、1、3、10 $\text{mmol kg}^{-1}$ 、沖積土では0、1、3、10、30 $\text{mmol kg}^{-1}$ 、淡色黒ボク土と黒ボク土では0、3、10、30 $\text{mmol kg}^{-1}$ であった。

以下、①と同様にグロースチャンパー内で4週間小麦を栽培し、4週後に草丈と新鮮物重を測定した。また、同様に土壌中の水溶性Zn量を測定した。

## 2. 結果と考察

### (1) 土壌中のカドミウム濃度と小麦の生育

表3-6にCd無添加の各土壌の小麦の新鮮物重と草丈を示した。生育は砂質土で最も良く、以下淡色黒ボク土、川砂、沖積土、黒ボク土の順であった。今回の実験では、肥料をやらなかったのも、供試土壌の栄養状態がそのまま反映されたと考えられる。

図3-9に添加Cd量と小麦の収量（新鮮物重、草丈）との関係を示した。生育は、各対照土壌での生育との比で示した。添加Cd量が多いときほど、小麦の生育量は減少したが、その影響は土壌によって異なった。特に砂質土、沖積土、川砂で影響が大きく、砂質土では、0.1 $\text{mmol kg}^{-1}$ 乾土の添加でも生育量は落ち、3 $\text{mmol kg}^{-1}$ の添加では全く生育しなかった。一方、黒ボク土ではCdの影響が比較的小さく、3 $\text{mmol kg}^{-1}$ の添加でもほとんど影響がなかった。新鮮物重と草丈を比較すると、新鮮物重の方がCdの影響が大きかった。

図3-10には、土壌中の水溶性Cd量と収量（新鮮物重）との関係を示した。水溶性Cd量と収量との関係は、土壌によって異なり、砂質土、沖積土、川砂では、0.1 $\text{mg kg}^{-1}$ でも収量が大きく低下した。一方、黒ボク土では、0.1 $\text{mg kg}^{-1}$ では全く影響がなかった。しかし、1 $\text{mg kg}^{-1}$ では収量が約20%減少し、10 $\text{mg kg}^{-1}$ 以上になると80%近く減少した。

Cdの影響を微生物活性と小麦の生育で比較すると、微生物活性が影響を受けはじめるときの水溶性Cd量は、土壌の種類によらず約1 $\text{mg kg}^{-1}$ であったのに対して、小麦の生育は、水溶性Cd量が1 $\text{mg kg}^{-1}$ では、すべての土壌で大きく影響を受け、明らかに小麦の方が、Cdに対して感受性が高い。一般に、細菌が保持する重金属の大部分は、細胞壁のタンパク質



表 3-6 各対照土壌での小麦の生育量

土 壌	新鮮物重 (g)	草 丈 (cm)
川 砂	0.406 ± 0.060 <sup>*</sup>	25.5 ± 1.5
砂質土	0.639 ± 0.111	30.4 ± 2.2
沖積土	0.393 ± 0.109	26.5 ± 1.6
淡色黒ボク土	0.548 ± 0.093	28.0 ± 2.5
黒ボク土	0.379 ± 0.088	26.9 ± 4.4

<sup>\*</sup> 標準偏差



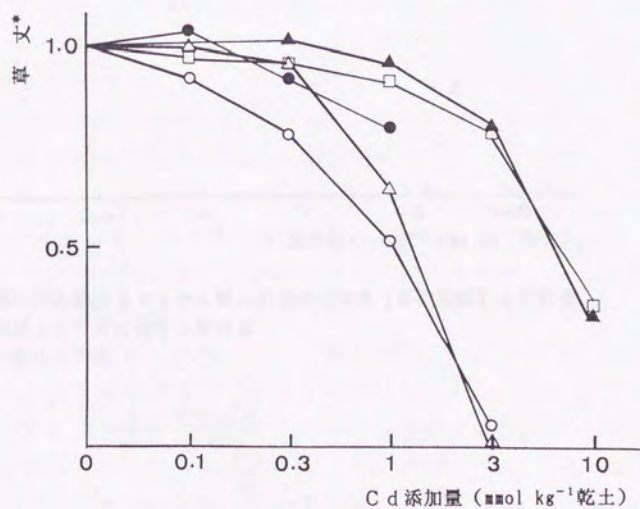
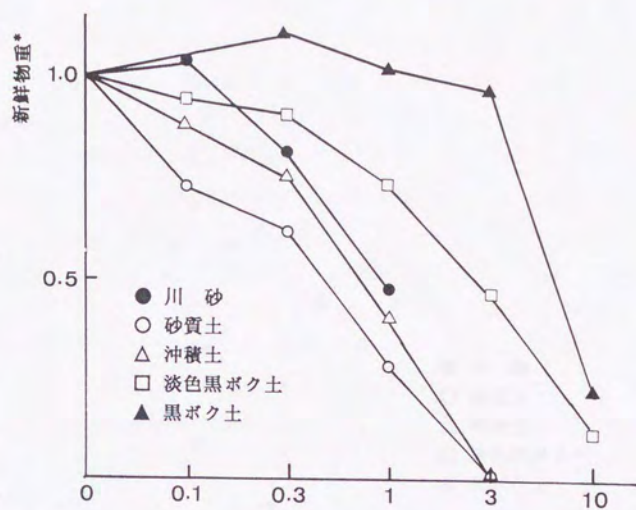


図3-9 小麦の生育に及ぼすカドミウムの影響

\*対照土の生育に対する相対値

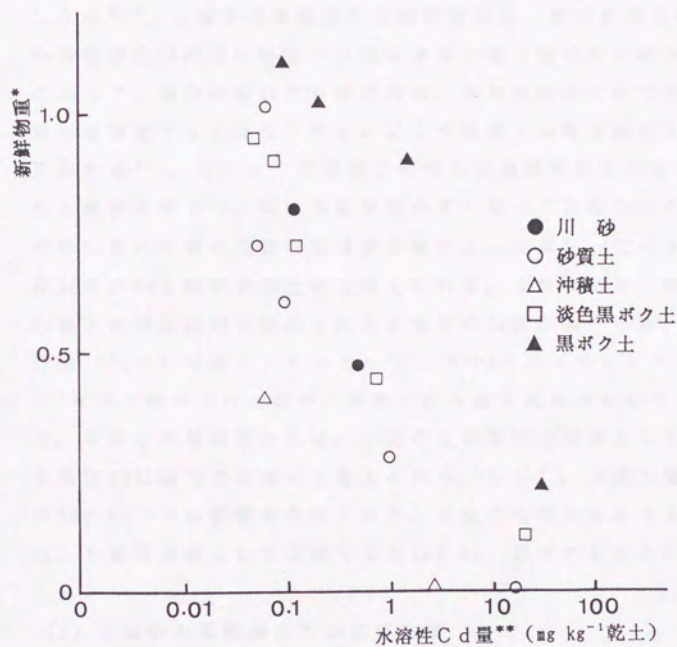


図3-10 土壤中の水溶性カドミウム量と小麦の生育量（新鮮物重）との関係

\*対照土の生育に対する相対値

\*\*対照土との差

等に機械的に吸着されたものと考えられている<sup>35)</sup>。例えば、*Bacillus subtilis*によって摂取されるCdの90%以上は細胞壁に、3~4%が細胞膜に存在し、細胞内の可溶性画分に存在しているCdは残りの数%に過ぎない<sup>36)</sup>。したがって、細菌が影響を受ける重金属は水溶性のものに限られると考えられる。一方、植物は、Cdのような非必須元素でも細胞膜内外の電位差により、細胞外の濃度(土壤中濃度)の100倍ほど濃縮して蓄積しうる<sup>37)</sup>。土壤中の重金属の水溶性画分は、他の画分と平衡関係にあり、水溶性画分が植物に吸収され減少すると他の画分から補充される<sup>37)</sup>。したがって、植物が吸収する重金属は、水溶性画分だけでなく、比較的容易に水溶性イオンになりやすい粘土や腐植への吸着画分も含まれると考えられる<sup>37)</sup>。このような細菌と植物の重金属吸収性の違いが、微生物活性と植物生育のCdに対する感受性の差となって表れたものとする。水溶性Cd量と小麦の生育の関係が土壌によって異なったのも、小麦が水溶性以外のCdも吸収するためと考えられる。これまで、植物が吸収するCd量と各種抽出剤で抽出される土壌中のCd量が調べられ、水<sup>38)</sup>、0.5M酢酸<sup>39)</sup>、1M硝酸アンモニウム<sup>12)</sup>、DTPA(ジエチレントリアミン五酢酸)<sup>40)</sup>などで抽出される量が、植物の吸収量と関係があることが示されている。本節の実験結果からは、小麦の生育阻害の指標としては、土壌中の水溶性Cdは適当ではないと考えられる。しかし、どの土壌でも水溶性Cdが $1\text{mg kg}^{-1}$ では影響を受けており、小麦の生育からみた土壌のCd許容量は、水溶性の量として少なくとも $1\text{mg kg}^{-1}$ 以下であるといえる。

## (2) 土壌中の亜鉛濃度と小麦の生育

ZnについてもCdと同様に土壌への添加量及び土壌中の水溶性量と小麦の生育との関係を調べた。図3-11に添加Zn量と小麦の収量(新鮮物重、草丈)との関係を示した。どの土壌でもZn添加量が、 $3\text{mmol kg}^{-1}$ までは、収量はほとんど低下せず、むしろやや増加する傾向にあった。Znは植物にとって必須元素であり、少量の添加は収量増をもたらすものと思われる。収量が大きく低下するのは、川砂と砂質土では、 $10\text{mmol kg}^{-1}$ 添加のときで、砂質土ではほとんど生育しなかった。また、沖積土では $30\text{mmol kg}^{-1}$ の添加で生育が大きく減少した。一方、淡色黒ボク土と黒ボク土では、 $30\text{mmol kg}^{-1}$ の添加でも収量はそれほど大きく減少しなかった。Znの



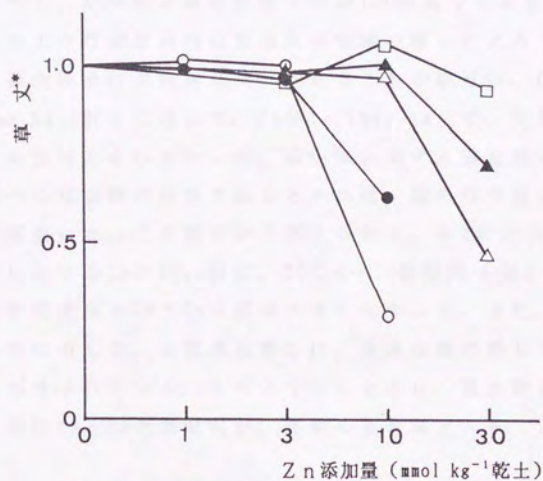
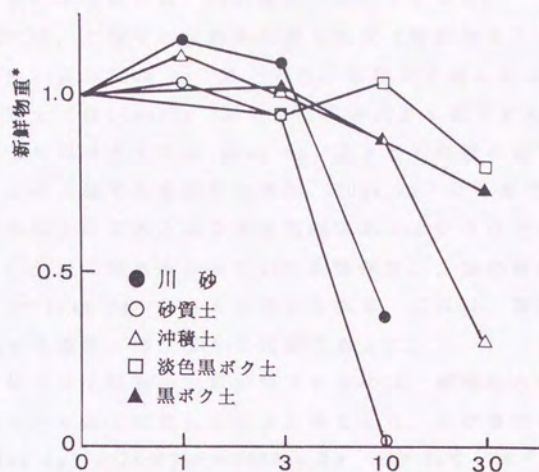


図3-11 小麦の生育に及ぼす亜鉛の影響  
\*対照土の生育に対する相対値

影響の土壌による違いは、Cdの場合と類似していた。

図3-12には、土壌中の水溶性Zn量と収量（新鮮物重）との関係を示した。水溶性Zn量が $10\text{mg kg}^{-1}$ 以上では、収量は土壌によって大きく異なり、川砂や砂質土では $10\text{mg kg}^{-1}$ 以上で収量が大きく低下するのに対して、淡色黒ボク土や黒ボク土では $100\text{mg kg}^{-1}$ 以上でも収量の低下は小さかった。しかし、どの土壌でも水溶性Zn量が、 $10\text{mg kg}^{-1}$ 近くまでは、収量は低下せず、それ以上になると減少する傾向にあるという点では一致した。したがって、小麦の生育からみたZnの許容量は、土壌の種類によらず、水溶性量で $1\sim 10\text{mg kg}^{-1}$ であると考えられる。これは、微生物活性が影響を受け始める濃度と同じような濃度であった。

重金属によって植物の生育が低下するのは、植物体内の重金属濃度がある一定レベル以上になったときと考えられ、その濃度は茎葉部で、Cdが $10\sim 30\text{mg kg}^{-1}$ 、Znが $300\sim 1000\text{mg kg}^{-1}$ とされている<sup>41)</sup>。Cdの場合、土壌によっては、水溶性量が $0.1\text{mg kg}^{-1}$ 乾土でも生育が大きく阻害されたのに比べて、Znでは水溶性量がその約100倍近くでも影響が小さかったのは、このような植物体内の重金属許容量の違いによると考えられる。

一方、微生物活性が阻害を受け始めるときの濃度は、Cdが水溶性量として約 $1\text{mg kg}^{-1}$ 乾土に対して、Znが $1\sim 10\text{mg kg}^{-1}$ で、小麦の生育の場合ほど大きな差はみられなかった。微生物に対する重金属の阻害機作が、細胞表面への重金属の吸着であるとすれば、微生物の重金属許容量は、重金属の種類によって大差ないと考えられる。第2章で示した細菌のコロニー形成に対するZnの $\text{ED}_{50}$ 値は、Cdの4~10倍程度（表2-6）であり、植物の体内許容量ほどCdとZnの差は大きくなかった。また、小麦は単一品種であるのに対して、土壌微生物には、各重金属に対して耐性の異なる種々の株が含まれている。このようなことから、微生物活性が影響を受け始める時のCdとZnの濃度差が、植物のときほど大きくなかったものと考ええる。

以上、CdとZnについて、微生物活性及び小麦の生育からみた土壌中の許容量を比較したが、Cdでは、小麦の生育の感受性が高かったが、Znに対する感受性は、微生物活性と小麦の生育で大差なかった。これは、微生物と植物の重金属吸収性の違い、CdとZnの体内許容量の違いなどに基づくものと考えられた。

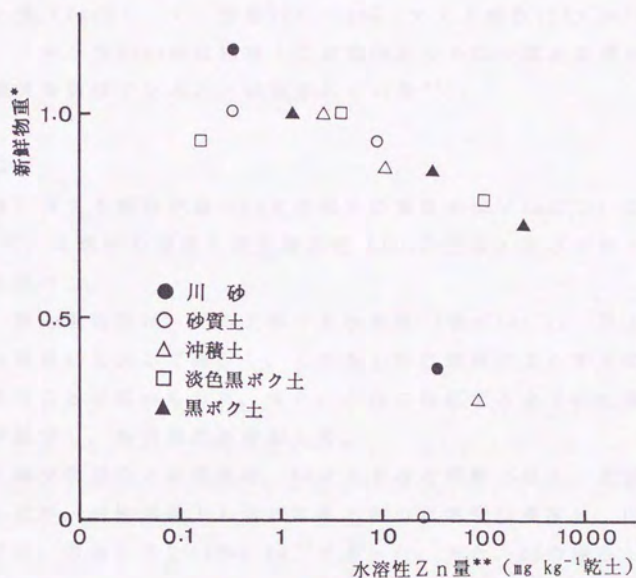


図3-12 土壤中の水溶性亜鉛量と小麦の生育量（新鮮物重）との関係

\*対照土の生育に対する相対値

\*\*対照土との差



なお、微生物の重金属の取り込みについては、受動的な吸着のほかに、細胞膜を通しての能動的な吸収が知られている<sup>35)</sup>。重金属の毒性を減じため、細菌がCdと結合するタンパク質を合成したり<sup>42)</sup>、細胞外に多量の多糖類を放出して重金属を吸着させることが知られているが<sup>43)</sup>、近年、微生物の重金属耐性機構について遺伝子レベルでの研究が進んでいる<sup>44)</sup>。このうちCdの耐性については、*Staphylococcus aureus*で最も良く調べられている。すなわち、プラスミド上のcadA遺伝子にコードされている2種類のタンパク質(CadA:アミノ酸数727、CadC:アミノ酸数122)がCd耐性に関与し、このうちCadAが細胞膜上で細胞内からのCdの流出に関わり、Cdの細胞内蓄積を妨げていることが示されている<sup>44)</sup>。

## 第5節 結論

微生物活性に対する毒性が強いCdと汚泥中の濃度が高いZnについて、5種類の土壌で、土壌中の濃度と微生物活性(CO<sub>2</sub>発生量)及び小麦の生育との関係を調べた。

その結果、微生物活性は、どの土壌でも水溶性Cd量が1mg kg<sup>-1</sup>以上になるとその対数値に比例して減少し、しかも土壌の種類によらずほぼ一本の直線に乗ることが認められた。また、これに対応するように土壌中の放線菌数が減少し、糸状菌数が増加した。

水溶性Znと微生物活性との関係は、Cdのときほど明瞭でなく、土壌によって異なったが、活性が低下しはじめるときの水溶性Zn濃度は、川砂以外の土壌では、おおよそ1~10mg kg<sup>-1</sup>であった。また、Cdの場合と同様、水溶性Znが約1mg kg<sup>-1</sup>以上になると土壌中の放線菌数は減少し、糸状菌は増加する傾向にあった。

小麦の生育は、土壌によっては水溶性Cdが0.1mg kg<sup>-1</sup>でも大きく阻害され、さらにすべての土壌で少なくとも1mg kg<sup>-1</sup>では阻害がみられ、微生物活性に比べて明らかにCdに対して感受性が強かった。一方、Znではすべての土壌で水溶性Znが1~10mg kg<sup>-1</sup>以上で生育量が減少し、微生物活性が低下しはじめる濃度とほぼ同じであった。

このように、微生物活性と小麦の生育で、あるいはCdとZnで土壌中の重金属許容量が異なるのは、細菌と植物の重金属吸収性の違い、CdとZnの体内許容量の違い等に基づくものと考えられた。

### 参考文献

- 1) Doelman, P. and Haanstra, L. (1979): Effect of lead on soil respiration and dehydrogenase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 11, 475~479
- 2) Doelman, P. and Haanstra, L. (1984): Short-term and long-term effect of cadmium, chromium, copper, nickel, lead and zinc on soil microbial respiration in relation to abiotic soil factors. *Plant Soil*, 79, 317~327
- 3) Domsh, K. H. (1984): Effects of pesticides and heavy metals on biological processes in soil. *Plant Soil*, 78, 367~378
- 4) Babich, H. and Stotzky, G. (1977): Reductions in the toxicity of cadmium to microorganisms by clay minerals. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 696~705
- 5) Babich, H. and Stotzky, G. (1982): Toxicity of nickel to microorganisms in soil: Influence of some physicochemical characteristics. *Environ. Pollut.*, 29, 303~315
- 6) Deboz, K., Babich, H. and Stotzky, G. (1985): Toxicity of lead to soil respiration: Mediation by clay minerals, humic acids, and compost. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 35, 517~524
- 7) Chang, F.-H. and Broadbent, F. E. (1981): Influence of trace metals on carbon dioxide evolution from a Yolo soil. *Soil Sci.*, 132, 416~421
- 8) 山本広基, 遠山和紀, 江川宏, 上甲知城, 鳥養広光 (1983): 銅汚染土壌の窒素の無機化作用, *日本土壌肥科学雑誌*, 54, 212~216
- 9) Tyler, G. (1974): Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. *Plant Soil*, 41, 303~311
- 10) Ebregt, A. and Boldewijn, J. M. A. M. (1977): Influence of heavy metals in spruce forest soil on amylase activity,  $CO_2$  evolu-



- tion from starch and soil respiration. Plant Soil, 47, 137~148
- 11) 渡辺久男、小山雄生(1988): 土壤中微量元素の抽出法, 日本土壤肥科学雑誌, 59, 226~236
  - 12) 久保井徹, 野口章, 矢崎仁也(1989): 硝酸アンモニウムによる可給態カドミウム抽出法の有効性と限界, 日本土壤肥科学雑誌, 60, 22~28
  - 13) Reber, H.H.(1989): Threshold levels of cadmium for soil respiration and growth of spring wheat(*Triticum aestivum* L.), and difficulties with their determination. Biol.Fertil.Soils, 7, 152~157
  - 14) 服部浩之, 藤井國博, 久保井徹, 広木幹也(1983): 下水汚泥施用各種土壤における無機態窒素の経時変化, 国立公害研報, 47, 37~44
  - 15) 土壤微生物研究会編(1975): 土壤中の微生物活性の測定, 土壤微生物実験法, p.270~354, 養賢堂, 東京
  - 16) 土壤養分測定法委員会編(1980): 酸度, 土壤養分分析法, p.29~44, 養賢堂, 東京
  - 17) 土壤養分測定法委員会編(1980): 窒素, 土壤養分分析法, p.171~224, 養賢堂, 東京
  - 18) Technicon Instruments Corp.(1973): Ammonia in water and seawater. Technicon Industrial Method, 154-71W/Tentative
  - 19) Technicon Instruments Corp.(1975): T.O.N./nitrite in water and waste-water. Technicon Industrial Method, 186-75E/Provisional
  - 20) 山口武則, 藤井國博, 麻生末雄(1986): 石灰凝集生活廃水汚泥中のMn, Zn, Cuの形態, 国立公害研報, 94, 1~9
  - 21) 土壤微生物研究会編(1975): 土壤中の微生物計数法, 土壤微生物実験法, p.21~42, 養賢堂, 東京
  - 22) 土壤微生物研究会編(1975): 土壤細菌実験法, 土壤微生物実験法, p.43~76, 養賢堂, 東京
  - 23) 土壤微生物研究会編(1975): 土壤糸状菌実験法, 土壤微生物実験法,



p.86~107, 養賢堂, 東京

- 24) Hayano, K. (1973): A method for the determination of  $\beta$ -glucosidase activity in soil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 19, 103~108
- 25) Ladd, J. N. and Butler, J. H. A. (1972): Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.*, 4, 19~30
- 26) Terry, R. E., Nelson, D. W. and Sommers, L. E. (1979): Decomposition of anaerobically digested sewage sludge as affected by soil environmental conditions. *J. Environ. Qual.*, 8, 342~347
- 27) Kuo, S. and Baker, A. S. (1980): Sorption of copper, zinc, and cadmium by some acid soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44, 969~97
- 28) Christensen, T. H. (1984): Cadmium soil sorption at low concentrations: I. Effect of time, cadmium load, pH, and calcium. *Water Air Soil Pollut.*, 21, 105~114
- 29) Adriano, D. C. (1986): Trace elements in the terrestrial environment. p.106~155, Springer-Verlag, New York
- 30) Garcia-Miragaya, J. and Page, A. L. (1976): Influence of ionic strength and inorganic complex formation on the sorption of trace amounts of Cd by monmorillonite. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 40, 658~663
- 31) Mahler, R. J., Bingham, F. T., Sposito, G. and Page, A. L. (1980): Cadmium-enriched sewage sludge application to acid and calcareous soils: Relation between treatment, cadmium in saturation extracts, and cadmium uptake. *J. Environ. Qual.*, 9, 359~364
- 32) Hayano, K. and Tubaki, K. (1985): Origin and properties of  $\beta$ -glucosidase activity of tomato field soil. *Soil Biol. Biochem.*, 17, 553~557
- 33) Babich, H. and Stotzky, G. (1977): Sensitivity of various bacteria, actinomycetes, and fungi on cadmium and the influence of pH on sensitivity. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 681~695

- 34) Jordan, M.J. and Lechevalier, M.P. (1975): Effects of zinc-smelter emissions on forest soil microflora. *Can. J. Microbiol.*, 21, 1855~1865
- 35) Lepp, N.W. (1992): Uptake and accumulation of metals in bacteria and fungi. in *Biogeochemistry of Trace Metals*, ed. by Adriano, D.C., 277~298, Lewis Publishers, London
- 36) Surowitz, K.G., Titus, J.A. and Pfister, M. (1984): Effects of cadmium on growth and respiration of a cadmium-sensitive strain of *Bacillus subtilis* and a selected cadmium-resistant mutant. *Arch. Microbiol.*, 140, 107~122
- 37) 茅野充男 (1979): 重金属と植物, 土壤汚染の機構と解析, 渋谷政夫編, 228~261, 産業図書, 東京
- 38) Mitchell, G.A., Bingham, F.T. and Page A.L. (1978): Yield and metal composition of lettuce and wheat grown on soils amended with sewage sludge enriched with cadmium, copper, nickel, and zinc. *J. Environ. Qual.*, 7, 165~171
- 39) Haq, A.U., Bates, T.E. and Soon, Y.K. (1980): Comparison of extractants for plant-available zinc, cadmium, nickel, and copper in contaminated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44, 772~777
- 40) Browne, C.L., Wong, Y.-M. and Buhler, D.R. (1984): A predictive model for the accumulation of cadmium by container-grown plants. *J. Environ. Qual.*, 13, 184~188
- 41) 茅野充男, 斎藤寛 (編) (1988): 重金属と生物, 81~142, 博友社, 東京
- 42) Mitra, R.S. (1984): Protein synthesis in *Echerichia coli* during recovery from exposure to low levels of  $Cd^{2+}$ . *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 1012-1016
- 43) Norberg, A.R. and Enfors, S.O. (1981): Production of extracellular polysaccharide by *Zooglea ramigera*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 1231-1237
- 44) Silver, S. and Walderhaug, M. (1992): Gene regulation of plasmid- and chromosome-determined inorganic ion transport in bacteria. *Microbiol. Rev.*, 56, 195-228



### 第1節 緒言

重金属が有機物の分解に及ぼす影響は、有機物の種類によっても異なる。例えば、Pbの添加によって、グルコースよりセルロースの分解が抑制される<sup>1)</sup>、低分子のアルカン類より重油のような複雑な炭化水素の分解が抑えられる<sup>2)</sup>、あるいは、汚染地で針葉樹の葉の酸不溶性有機物（リグニン）の分解が特に阻害されている<sup>3)</sup>などの報告がある。これらの結果は、易分解性の有機物よりもより難分解性の有機物の分解が重金属によって阻害されることを示している。しかし、難分解性の有機物の分解が重金属によって特に阻害される原因については、解明されていない。

本章では、土壌微生物活性への影響が大きかったCdについて、各種有機物の分解に及ぼす影響を比較し、有機物によって影響が異なる原因を解明し、さらに、それらを通してCdの微生物活性の阻害機構を明らかにすることを試みた。

まず、最初に、最も基本的な有機物でかつ微生物によって容易に分解されるグルコースとセルロースを取り上げ、その分解へのCdの影響を調べた。土壌に添加された有機物は、比較的安定な形態で土壌中にとどまったり、あるいは土壌中のバイオマスに取り込まれたりしながら、最終的にはCO<sub>2</sub>となって、大気中へ揮散していくと考えられる<sup>4)</sup>。グルコースやセルロースは、易分解性の有機物でその代謝中間体が長期間土壌中にとどまることは考えにくい<sup>5)</sup>。したがって、土壌に添加されたグルコースやセルロースは、そのまま土壌中にとどまるか、CO<sub>2</sub>として発生するか、あるいは土壌中のバイオマスに取り込まれると考えられる。Cdを添加することによって、これらのバランスがどう変化するかについて検討した。

次に、各種有機物の分解に及ぼすCdの影響、さらに、有機物の性質と分解性への影響の関係を調べ、どのような性質の有機物が重金属によって、分解阻害を受けやすいのかについて検討した。

さらに、前章で水溶性Cd濃度が1mg kg<sup>-1</sup>以上になると、放線菌数が減少して、糸状菌が増加し、それに対応してCO<sub>2</sub>発生量が低下することを示したが、このような菌相の変化によって、汚泥の分解性が低下するかと



うかを確かめるため、細菌、放線菌、糸状菌の汚泥分解性を比較した。

## 第2節 グルコース及びセルロースの分解に及ぼすカドミウムの影響

### 1. 実験方法

#### (1) 供試土壌

実験には、有機物含量の少ない砂質土を用いた。風乾後、2mmのふるいを通して実験に供した。

#### (2) 培養試験

乾土として20gの砂質土をスチロールびんに入れ、添加Cd濃度が、0、0.1、1、10mmol kg<sup>-1</sup>になるようにCdCl<sub>2</sub>溶液を添加した。また、Cl<sup>-</sup>の影響を相殺するため、全処理区ともCl<sup>-</sup>濃度が20mmol kg<sup>-1</sup>になるように、CaCl<sub>2</sub>を添加した。さらに、窒素分を補うために、全処理区に1kg乾土あたり5gの硫酸アンモニウムを水溶液として加えた後、最大容水量の60%になるように水を加えて混合した。その1日後に土壌の1%量のグルコースまたはセルロース粉末(100~200メッシュ)を加えて混合した。グルコース添加土壌は2週間、セルロース添加土壌は8週間それぞれ28℃で培養し、この間のCO<sub>2</sub>発生量を測定した。測定は、第1章、第2節に示したとおり、0.5M NaOH液に吸収されたCO<sub>2</sub>量を0.2M HCl液で滴定して行った<sup>6)</sup>。

また、土壌中のグルコース量、セルロース量、微生物数、ATP量の変化を調べるため、砂質土50gに上記と同様にCdを添加し、同条件下で並行して培養した。グルコース添加土壌では、土壌中のグルコース量、土壌微生物数、ATP量をグルコース添加直後、1、2、3、7、14日後に測定した。セルロース添加土壌では、土壌中のセルロース量、土壌微生物数、ATP量をセルロース添加直後、1、2、3、4、8週後に測定した。

#### (3) 土壌中のグルコース、セルロース量の測定

土壌中のグルコースは、土壌5gに水50mlを加えて30分間振とう後、ろ過し、ろ液中のグルコース量をSomogyi-Nelson法で測定した<sup>7)</sup>。また、土壌中のセルロースは、土壌2gに80%硫酸液3mlを加え、室温で30分間放置後、水で希釈しろ過した<sup>8)</sup>。ろ液の量を100mlに合わせた後、ろ液中の

ヘキソース量をアンスロン法<sup>9)</sup>で測定した。

#### (4) 土壌微生物数及びATP量の測定

土壌中の細菌数、糸状菌数は、第1章、第2節に示したとおり、希釈平板法<sup>10)</sup>で測定した。細菌数は、アルブミン寒天培地<sup>11)</sup>を用い、28℃で7日間培養後計数した。糸状菌数は、ローズベンガル寒天培地<sup>12)</sup>を用い、25℃で4日間培養後計数した。

土壌中のATP (Adenosine triphosphate) 量は、Jenkinsonらの方法<sup>13)</sup>に従って測定した。すなわち、土壌2.5gに抽出液 (0.5M トリクロロ酢酸、0.25M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 50mlを加え、超音波発生装置 (トミー精工、BH-200P) で1分間超音波処理をした後、ろ過した。ろ液50 $\mu\text{l}$ を、緩衝液 (0.1M  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$ 、10mM  $\text{MgSO}_4$ 、2mM EDTA) 25mlを入れたバイアル瓶に入れた。さらに、luciferin液 (Sigma、FLE-50) 100 $\mu\text{l}$ を加え、その直後から1分間蛍光量をATPフォトメーター (SAI Technology、Model3000) で測定した。ATP (Sigma) 標準液の検量線から、土壌中のATP量を求めた。なお、Jenkinsonら<sup>13)</sup>は、粘土に吸着されるATPの回収率を高めるため、抽出液に0.1M バラコートを加えているが、今回用いた土壌は、砂質土であるため、バラコートは用いなかった。

## 2. 結果と考察

### (1) グルコース及びセルロースの分解に及ぼすCdの影響

図4-1に、各処理土壌中のグルコース量及びセルロース量の変化を示した。グルコースは、Cd無添加の土壌では、1日後に大きく減少し2日目には検出されなくなった。Cdを0.1、1mmol  $\text{kg}^{-1}$ 添加した土壌でも1日目の減少量は、Cd無添加土壌に比べると少なかったが、2日目には大きく減少し検出限界以下となった。Cdを10mmol  $\text{kg}^{-1}$ 乾土添加した土壌では、1日後には全く減少せず、2日目に大きく減少し、3日目には検出限界以下となった。3日目以降は、どの処理区でもグルコースは検出されなかった。このように土壌中のCd濃度が高いほどグルコースの減少は遅れるが、どの処理区でも3日目までには消失しており、Cdを10mmol  $\text{kg}^{-1}$ 添加した土壌でもグルコースは完全に分解され则认为られる。

セルロースは、Cd無添加及び0.1、1mmol  $\text{kg}^{-1}$ 添加した土壌では、2週



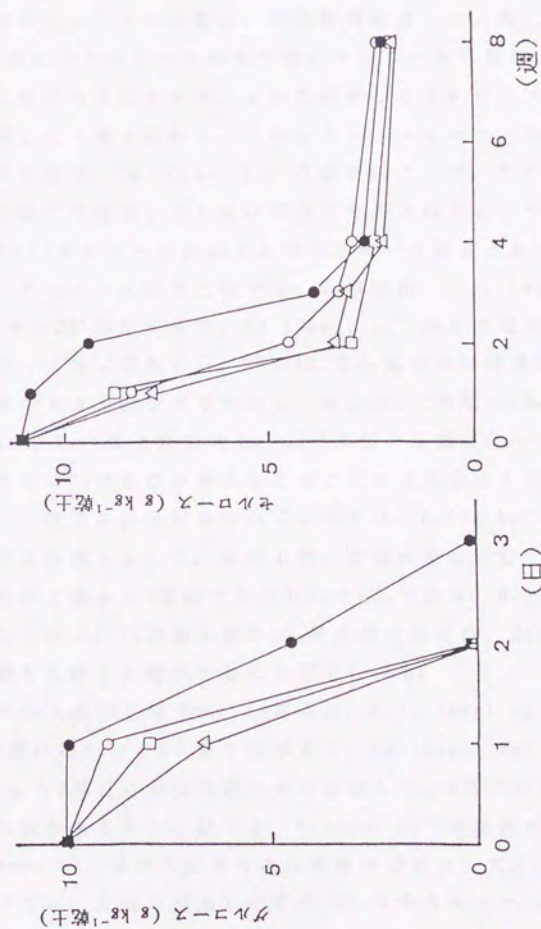


図4-1 土壌中のグルコース及びセルロース残存量の変化

$\Delta$  —  $\Delta$  Cd添加量, 0  $\text{mmol kg}^{-1}$   
 $\square$  —  $\square$  Cd添加量, 0.1  $\text{mmol kg}^{-1}$   
 $\circ$  —  $\circ$  Cd添加量, 1.0  $\text{mmol kg}^{-1}$   
 $\bullet$  —  $\bullet$  Cd添加量, 10  $\text{mmol kg}^{-1}$



目までに大きく減少し、その後も緩やかに減少を続けた。一方、Cdを $10\text{ mmol kg}^{-1}$ 添加した土壌では、2週目までの減少量は少なかったが、3週目に大きく減少し、その後も緩やかに減少を続けた。8週後の土壌中のセルロース量は土壌間でほとんど差がみられなかった。セルロース無添加の対照土壌のセルロース含量は、培養期間を通して、約 $1.6\text{ g kg}^{-1}$ 乾土であった。8週後のセルロース添加土壌のセルロース含量は、対照土の含量とほぼ同じ値であることから、土壌に添加したセルロースは8週間でほとんどが分解したと考えられる。このように、セルロースの場合もグルコースの場合と同様、Cd  $10\text{ mmol kg}^{-1}$ の添加によって、その減少は遅れるが、最終的にはどの処理区でもほぼ完全に分解されるという結果が得られた。

図4-2に、グルコース添加土及びセルロース添加土からの $\text{CO}_2$ 発生量を示した。グルコース添加土壌では、Cd無添加、 $0.1$ 、 $1\text{ mmol kg}^{-1}$ 添加の場合1日目から2日目にかけて、Cd  $10\text{ mmol kg}^{-1}$ 添加の場合は2日目から3日目にかけて大きく増加した。この $\text{CO}_2$ 発生量が多い時期は、土壌中のグルコース量が大きく減少する時期と一致した。2週間の $\text{CO}_2$ の全発生量は、Cd  $0.1\text{ mmol kg}^{-1}$ 乾土添加でも、Cd無添加の土壌に比べてわずかながら少なく、さらにCd添加量が多くなるほど発生量は少なくなった。なお、各処理区の二連での発生炭素量のばらつきは、 $0.07\text{ g kg}^{-1}$ 以下であり、処理区間差は有意であった。供試土壌の炭素含量は少なく、グルコース無添加の対照土壌から2週間で発生した全 $\text{CO}_2\text{-C}$ 量は、 $0.1\text{ g kg}^{-1}$ 以下と少なかったことから、Cd添加土壌の $\text{CO}_2$ 発生量の減少は、Cdがグルコースの分解に影響を及ぼした結果生じたと考えられる。

セルロース添加土壌では、Cd無添加、 $0.1$ 、 $1\text{ mmol kg}^{-1}$ 添加の場合1週目から3週目にかけて $\text{CO}_2$ 発生量が多く、Cd  $10\text{ mmol kg}^{-1}$ 乾土添加の場合は2週目から8週目にかけて緩やかに増加した。8週間の全 $\text{CO}_2$ 発生量は、Cd無添加区が最も多く、以下 $1$ 、 $0.1\text{ mmol kg}^{-1}$ 添加区がわずかの差で続き、 $10\text{ mmol kg}^{-1}$ 添加区はさらに発生量が少なかった。

このように、土壌に添加したグルコースやセルロースは、Cdを $10\text{ mmol kg}^{-1}$ 乾土添加した土壌でもほとんど消失したにもかかわらず、 $\text{CO}_2$ の発生量は、Cd添加量の多い土壌ほど減少する傾向にあった。土壌に添加された有機物は、土壌中にそのままあるいは形態変化してとどまる、バイオマスに取り込まれる、 $\text{CO}_2$ となって大気中へ揮散する、以上の運命をたど

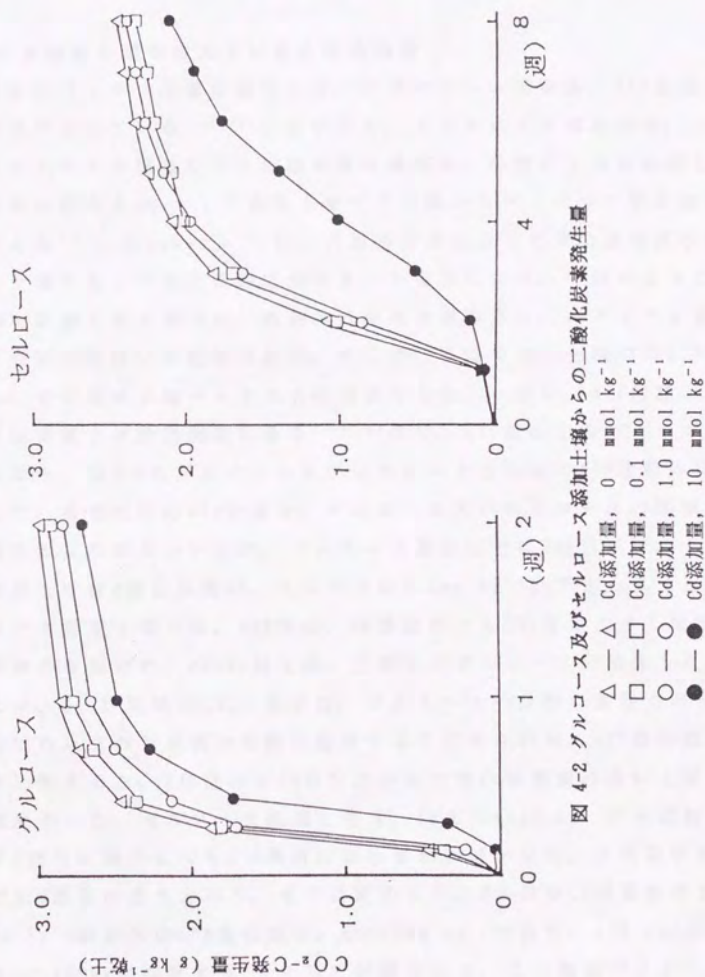


図 4-2 グルコース及びセルロース添加土壌からの二酸化炭素発生量



ると考えられる<sup>4)</sup>。したがって、Cd添加土壌でのCO<sub>2</sub>発生量の減少は、土壌バイオマスの増加、あるいは代謝中間体の土壌中への蓄積によるものと推定される。

## (2) Cd添加土壌中のATP量と微生物数

土壌中のバイオマス量の測定には、クロロホルム燻蒸法、ATP量測定法などが用いられている<sup>14)15)</sup>。このうち、クロロホルム燻蒸法は、土壌をクロロホルムで燻蒸して土壌微生物を滅菌後、少量の土壌を接種して菌体由来の炭素をCO<sub>2</sub>として発生させてその量からバイオマス量を求める方法である<sup>16)</sup>。Brookesら<sup>17)</sup>は、汚泥の施用によって重金属濃度が高くなった土壌でもこの方法を適応できることを示したが、今回のように多量のCdを添加した土壌では、死菌体の分解が阻害され、バイオマス量を正確に求められない可能性がある。そこで、ここでは、土壌中のATP量を測定し、その量を土壌バイオマスの指標とした。一般に、ATP含量とバイオマス炭素量とは比例関係にある<sup>18)19)</sup>ので、ATP量は土壌バイオマスの指標になる。図4-3にグルコース及びセルロース添加後のATP含量の変化を示した。各処理区のATP含量は、グルコース及びセルロースの添加直後は二連でかなりばらついたが、グルコース添加土では7日目以降、セルロース添加土では4週目以降は、ばらつきは0.1mg kg<sup>-1</sup>以下と小さくなった。グルコース添加土壌では、ATP量は、各処理区とも2日目に大きく増加し、その後減少を続けた。CO<sub>2</sub>の発生は、土壌中のグルコースが消失した後も続いたが、3日目以降のCO<sub>2</sub>の発生は、グルコースの分解の過程でバイオマスに取り込まれた炭素の分解に由来すると考えられる。ATP量の処理区間差を比較すると、3日目から14日目にかけてはCd添加量の多い土壌が多い傾向にあった。セルロース添加土では、Cdを10mmol kg<sup>-1</sup>乾土添加した土壌で4週目に最大になり、8週目にはわずかに減少した。それ以外の処理区では2週目に最大となり、その後減少した。8週目のCd無添加区とCd 10mmol kg<sup>-1</sup>添加区のATP量の差は、約0.9mg kg<sup>-1</sup>であり、ATP 1mgがバイオマス-C 120mgに相当する<sup>18)</sup>として計算すると、この量はバイオマス-C 108mg kg<sup>-1</sup>に換算される。この時の両処理区間のCO<sub>2</sub>-C発生量の差は約300mg kg<sup>-1</sup>であった。したがって、両処理区間のCO<sub>2</sub>発生量の差をATP量から換算したバイオマス量だけでは完全に説明できない。しかし、ATPは



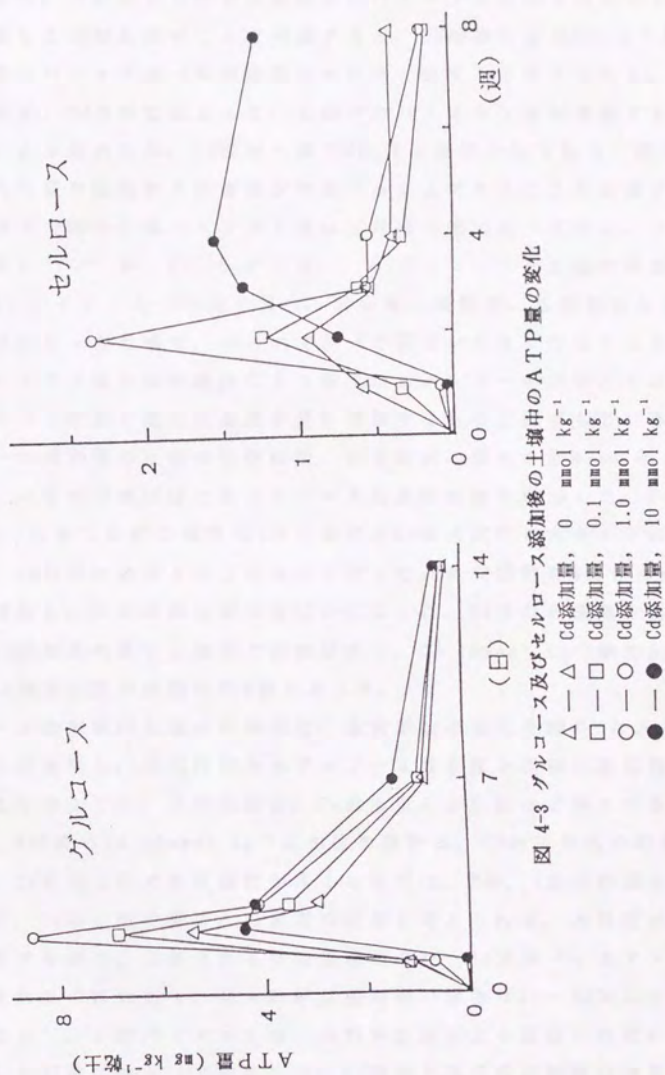


図 4-3 グルコース及びセルロース添加後の土壌中のATP量の変化

△ — △ Cd添加量, 0 mmol kg<sup>-1</sup>  
 □ — □ Cd添加量, 0.1 mmol kg<sup>-1</sup>  
 ○ — ○ Cd添加量, 1.0 mmol kg<sup>-1</sup>  
 ● — ● Cd添加量, 10 mmol kg<sup>-1</sup>

生細胞中のみにあり、死細胞、細胞外にあるものは、速やかに分解されると考えられ、今回測定した中に死細胞のバイオマスは含まれていない。増殖後死滅した細胞も多いことを考慮すると、Cd添加による $\text{CO}_2\text{-C}$ の発生量の減少量とバイオマス-Cの増加量はかなり一致すると考えられる。

以上の結果、Cdの添加によって、土壌中のバイオマス量が増加する傾向にあることが認められ、Cd添加土壌で $\text{CO}_2$ 発生量が少なくなる一因は、バイオマスに取り込まれる炭素量が増加することにあることが示唆された。重金属汚染地の土壌バイオマス量は、対照土壌に比べて少ないという報告が多い<sup>20-22)</sup>が、Killham<sup>23)</sup>は、 $^{14}\text{C}$ -グルコースを土壌に添加して、 $\text{CO}_2\text{-C}$ :バイオマス-Cの比を調べ、重金属、酸性雨、塩類集積などのストレスがかかった土壌で、バイオマス-Cの割合が大きくなることを示し、ストレス下では生体の維持により多くのエネルギーを必要とするため、バイオマスに取り込まれる炭素量が増加するものと推察している。

グルコース添加後の土壌中の細菌数、糸状菌数の変化を図4-4に示した。細菌数は、いずれの処理区でもグルコース添加後急激に増加した。Cdを $10\text{mmol kg}^{-1}$ 添加した区の菌数は7日目まではCd無添加区を大きく下回っていたが、14日目にはほとんど差がなくなった。糸状菌数も3日目にかけて急激に増加し、それ以降はほぼ横ばいになった。14日目の菌数を比較すると、Cd添加量の多い土壌ほど菌数が多く、Cd  $10\text{mmol kg}^{-1}$ 添加区の菌数は、Cd無添加区の菌数の約8倍であった。

セルロース添加後の土壌中の細菌数、糸状菌数の変化を図4-5に示した。セルロース添加後も、各処理区ともグルコース添加後と同様に細菌数、糸状菌数とも増加した。糸状菌数は、Cd添加量の多い区ほど多くなる傾向にあり、8週後のCd  $10\text{mmol kg}^{-1}$ 添加区の菌数は、Cd無添加区の約20倍であった。Cd添加土壌で糸状菌数が多くなるのは、2章、3章の結果と一致しており、Cdの土壌生態系への影響の結果と考えられる。糸状菌が有機物を分解する場合、分解される有機態炭素の30~40%がバイオマス内に取り込まれるのに対して、多くの好気性細菌の場合は10~20%しか取り込まれない<sup>24)</sup>。土壌バイオマス量と希釈平板法による菌数との間の関係は必ずしも明確にはなっていないが、Cd添加土壌での糸状菌の増加は、バイオマスに取り込まれる炭素量の増加を示唆している。

今回の実験では、グルコース及びセルロースの代謝中間体の量は測定

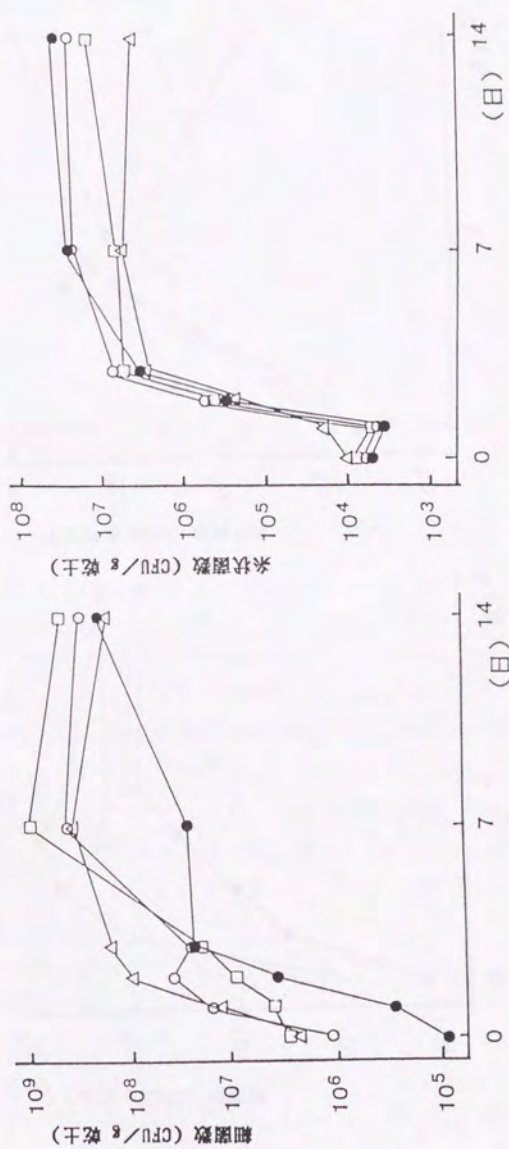


図 4-4 グルコース添加後の土壤中の細菌数、糸状菌数の変化

$\Delta$  —  $\Delta$  Cd添加量, 0 mg/kg<sup>-1</sup>  
 $\square$  —  $\square$  Cd添加量, 0.1 mg/kg<sup>-1</sup>  
 $\circ$  —  $\circ$  Cd添加量, 1.0 mg/kg<sup>-1</sup>  
 $\bullet$  —  $\bullet$  Cd添加量, 10 mg/kg<sup>-1</sup>



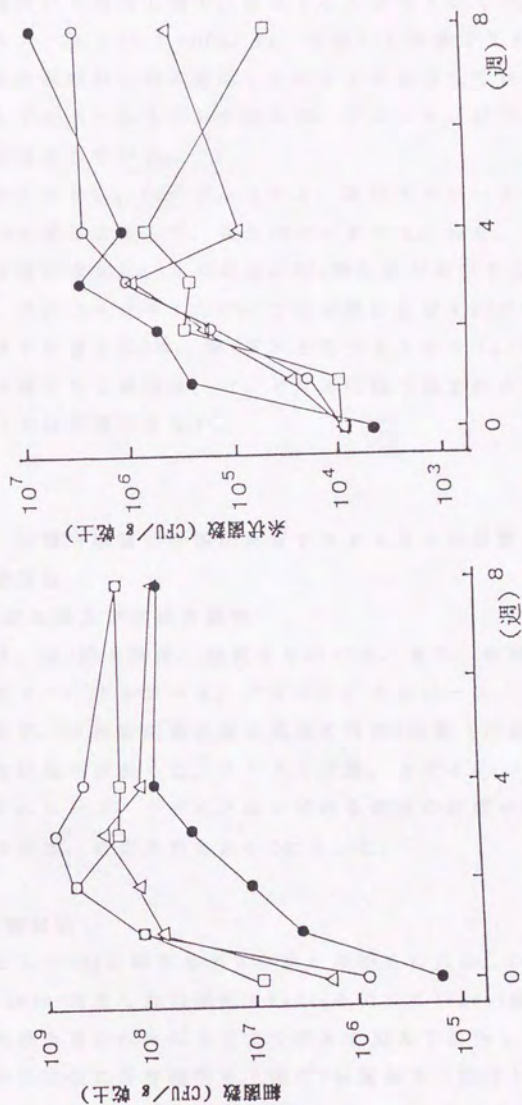


図 4-5 セルロース添加後の土壌中の細菌数、糸状菌数の変化

しなかった。しかし、グルコースは土壌微生物によって容易に分解され、代謝中間体が長期間土壌中に留まることは考えにくい。Ohyaら<sup>24)</sup>は、土壌にグルコースとZn  $1,000\text{mg kg}^{-1}$ 添加した実験でグルコースの代謝中間体である有機酸は土壌に蓄積しないことを報告している。また、セルロースからグルコースまでの中間体は、アンスロン法ですべてヘキソースとして定量されている。

以上のことから、Cdのグルコース、及びセルロースの分解阻害機構として、Cdの添加によって、微生物バイオマス、特に、糸状菌に取り込まれる炭素量が増加し、そのために $\text{CO}_2$ 発生量が減少することが考えられた。しかし、グルコースやセルロースの分解に及ぼすCdの影響は、汚泥の分解に及ぼす影響（第2章、第3章）と比べると小さく、汚泥の分解がCdで大きく阻害される原因は、バイオマスに取り込まれる炭素量が増加することだけでは説明できない。

### 第3節 各種有機物の分解に及ぼすカドミウムの影響

#### 1. 実験方法

##### (1) 供試土壌及び供試有機物

土壌は、第2節と同様、砂質土を用いた。また、有機物は、グルタミン酸、カゼイン、グルコース、デンプン、セルロース、リグニン、稲わら、稲わら堆肥、それに炭素含量の異なる汚泥3種類（汚泥D、E、F）の計11種類の有機物を供試した。グルタミン酸、カゼイン、グルコース、デンプン、セルロース、リグニンはいずれも市販の試薬を用いた。これらの有機物の炭素、窒素含量を表4-1に示した。

##### (2) 培養試験

乾土として20gの砂質土をスチロールびんに入れ、 $\text{CdCl}_2$ 溶液を1kg乾土当たり $10\text{mmol}$ 添加した処理区と $\text{CaCl}_2$ を同じく $10\text{mmol}$ 添加した対照区を設け、最大容水量の60%になるように水を加えて混合した。その3日後に、これらの処理区に各有機物を土壌の1%量加えて混合して、 $28^\circ\text{C}$ で8週間培養し、この間の $\text{CO}_2$ 発生量を測定した。なお窒素含量の少ない有機物（グルコース、デンプン、セルロース、リグニン、稲ワラ）については



表4-1 供試有機物及び供試土壌の  
全炭素と全窒素含量

	全炭素量 (g kg <sup>-1</sup> )	全窒素量 (g kg <sup>-1</sup> )
グルタミン酸	405	94
カゼイン	471	139
グルコース	406	0
デンプン	388	0
セルロース	419	0
リグニン	509	2
稲ワラ	401	6
稲ワラ堆肥	419	27
汚泥D	329	44
汚泥E	448	56
汚泥F	481	123
砂質土	5	0.5
淡色黒ボク土	32	2.6

1kg乾土当たり0.2gの窒素を硫酸として加えた。CO<sub>2</sub>発生量の測定は0.5M NaOH液に吸収されたCO<sub>2</sub>量を0.2M HCl液で滴定して行った<sup>23)</sup>。

8週後の培養終了時に、土壌中の重金属の形態を、第2章、第2節と同様に、水、0.05M CaCl<sub>2</sub>、25g L<sup>-1</sup> 酢酸、0.1M Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>、HClO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>分解後のHCl抽出の逐次抽出法<sup>25)</sup>で調べた。

### (3) 各有機物のCd吸着性

各有機物のCd吸着性を比較した。10mg L<sup>-1</sup>のCdCl<sub>2</sub>溶液50mlに各有機物を0.1g加えて1時間振とうした後、ろ過しろ液中のCd量を原子吸光で測定した。有機物添加前の溶液中のCd量と、振とうろ過後のろ液中のCd量の差を有機物に吸着されたCd量とした。

## 2. 結果と考察

図4-6に、Cd添加土壌及び対照土壌での各有機物添加後のCO<sub>2</sub>発生量を示した。図には、添加した有機物中の炭素のうち、CO<sub>2</sub>として発生した炭素の割合を示している。リグニン<sup>26)</sup>は8週間で殆ど分解しなかったが、他の有機物はかなり分解した。Cdの影響をみると、各有機物の分解ともCdによって阻害されたが、特に、稲わら、稲わら堆肥、汚泥で影響が大きかった。カゼイン、デンプン、セルロースは添加直後には分解は大きく阻害されたが、その後徐々に回復する傾向にあった。一方、グルタミン酸、グルコースは添加直後から影響は小さかった。

表4-2に各有機物の8週間の分解率を示した。グルタミン酸、カゼイン、グルコース、デンプン、セルロースは、Cd添加土でも対照土の80%以上の分解率があり、Cdの影響が比較的小さかった。一方、稲わら、稲わら堆肥、汚泥では、Cd添加土壌からのCO<sub>2</sub>発生量は、対照土の約27~70%と影響が大きかった。これら分解の阻害が大きかった有機物はいずれも単一の有機物でなく、種々の有機物が混在している有機物であるという共通点がある。

表4-3に8週後の土壌中のCdの形態及び土壌pHを示した。土壌中のCdは、どの有機物を加えた場合も、大半が、水、CaCl<sub>2</sub>、酢酸で抽出され、Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>及びHClO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>分解後に抽出される量はわずかだった。その中で、汚泥、グルタミン酸、カゼインでは水で抽出されるCdが少なく、酢酸で



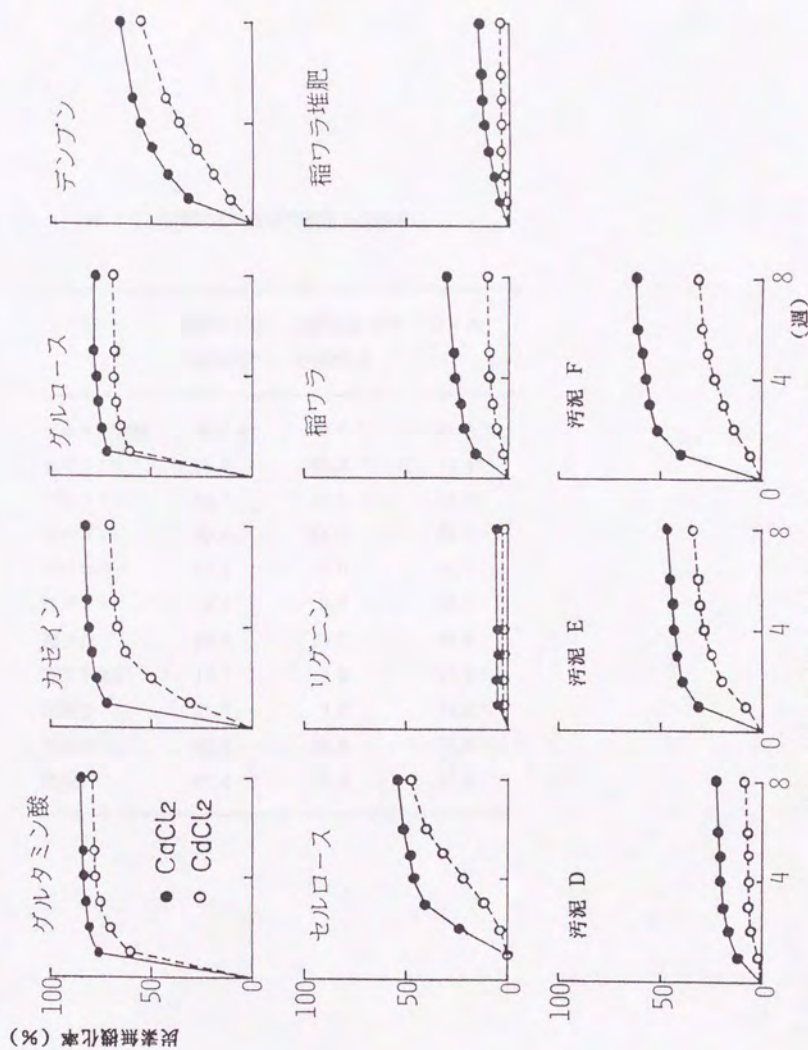


図4-8 各種有機物の分解に及ぼす $\text{Cd}$ の影響

表 4-2 8週間での各種有機物の分解率

	対照土での 分解率(A)	Cd添加土での 分解率(B)	B/A
グルタミン酸	85.3 %	80.7 %	94.6 %
カゼイン	83.2	70.3	84.4
グルコース	78.7	69.8	88.7
デンプン	65.0	54.9	84.5
セルロース	53.2	48.0	90.2
リグニン	4.4	3.0	68.2
稲ワラ	29.5	10.5	35.6
稲ワラ堆肥	14.7	4.0	27.2
汚泥D	23.3	8.0	34.3
汚泥E	46.9	33.0	70.3
汚泥F	62.4	32.3	51.8



表 4-3 培養8週後の土壌中のCdの形態及び土壌pH

添加有機物	抽出剤					pH
	水	CaCl <sub>2</sub>	酢酸	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	HClO <sub>4</sub> -HNO <sub>3</sub>	
	抽出Cd量/添加Cd量(%)					
グルタミン酸	1.8	62.3	36.7	1.8	2.2	7.9
カゼイン	2.7	59.8	39.9	2.2	3.1	8.3
グルコース	31.1	62.7	4.7	0.7	0.8	5.3
デンプン	35.6	60.8	6.2	1.1	0.8	5.1
セルロース	39.3	58.6	6.0	1.1	0.9	5.0
リグニン	20.4	79.5	7.3	1.2	0.7	5.4
稲ワラ	21.2	70.3	8.3	1.2	0.9	5.7
稲ワラ堆肥	10.0	74.0	16.4	1.2	1.1	6.3
汚泥 D	12.1	74.9	17.1	1.4	1.1	6.1
汚泥 E	8.5	78.0	17.7	1.2	1.2	6.3
汚泥 F	1.5	64.9	37.9	1.8	1.9	5.5
—	24.6	71.3	6.8	1.0	0.9	5.5

抽出されるCd量が多かった。これはこれらの有機物が有機態窒素を多く含み、それらが無機化して多量の $\text{NH}_4\text{-N}$ を生成し、土壌pHが8以上に上昇したためと思われる。また、全体的に稲ワラ、稲ワラ堆肥、汚泥では、グルコース、デンプン、セルロースに比べて、水で抽出されるCd量が少なく、 $\text{CaCl}_2$ で抽出されるCd量が多い傾向にあった。 $\text{CaCl}_2$ で抽出されるCdは交換態のCdと考えられ、稲ワラ、稲ワラ堆肥、汚泥を添加した土壌でこれらの形態のCdが増加するのは、稲ワラ等にCdがイオン結合で吸着するためと考えられる。前章までに、水溶性の重金属量が多いときほど、微生物活性がおさえられることを示してきたが、今回の結果は、逆に、水溶性のCdが少ない稲ワラや汚泥添加土でより影響を受けるという結果となった。これについては、Cdが有機物に吸着し、そのために有機物の分解が抑えられることが考えられる。すなわち、水溶性のCdは微生物に影響を及ぼし、土壤微生物相に変化をもたらすと考えられるが、有機物に吸着したCdは、土壤微生物へ影響を及ぼすというより、有機物に吸着することによって、その有機物を土壤微生物による攻撃からブロックし、結果的に分解を抑えるということである。重金属が腐植に吸着する場合、主に、カルボキシル基に吸着する<sup>26)</sup>が、カルボキシル基のような官能基は、微生物によって比較的容易に分解される部位と考えられ、ここがCdでブロックされることによって、微生物に分解されにくくなることは十分考えられる。

各有機物のCd吸着性を比較し、表4-4に示した。有機物のCd吸着性は、 $10\text{mg L}^{-1}$ の $\text{CdCl}_2$ 溶液50mlに各有機物を0.1g加えて1時間振とうした後、各有機物に吸着されるCdの割合で示した。グルタミン酸、グルコースは水溶性の有機物のため吸着量は測定できなかった。Cd吸着性は、稲ワラ、稲ワラ堆肥、汚泥で高く、いずれも80%以上を吸着した。一方、カゼイン、デンプン、セルロースでは吸着性は20%以下と低かった。この結果は、表4-3の結果と一致し、Cdによる分解阻害の大きい有機物が、Cdを吸着しやすいことを示している。したがって、稲ワラや汚泥の分解が、Cdによって大きく阻害される一因は、これらの有機物にCdが吸着しやすく、Cdが吸着することによって分解が抑えられることにあると考えられる。

また、Cdによる分解の阻害が大きかった有機物はいずれも単一の有機物でなく、種々の有機物が混在している有機物であった。多様な有機物

表 4-4 各種有機物のCd吸着性

有機物	Cd吸着性 <sup>*</sup>
グルタミン酸	-
カゼイン	8.8%
グルコース	-
デンプン	15.6
セルロース	15.8
リグニン	21.5
稲ワラ	88.7
稲ワラ堆肥	84.6
汚泥 D	92.8
汚泥 E	90.2
汚泥 F	84.3

<sup>\*</sup> 10mg L<sup>-1</sup>のCdCl<sub>2</sub>液50mlに各有機物0.1g  
添加時に各有機物に吸着されるCdの割合



の分解には多様な微生物が必要と考えられるが、Cdによって土壌微生物相が変化し、多様な有機物の分解に対応できにくくなった可能性もある。土壌に重金属が加わると、重金属に対して感受性の高い微生物は減少し耐性菌のみが増加し、微生物の多様性は低下する<sup>27)</sup>。微生物の多様性が低下すると、物質代謝能も低下することが知られている<sup>28)</sup>。したがって、汚泥等でCdの影響が大きかった原因は、土壌微生物相の変化によるという考えも否定できない。

これらの阻害機構については、次節以降でさらに検討する。

#### 第4節 カドミウムを吸着させた有機物の分解性

##### 1. 実験方法

##### (1) 供試土壌及び供試有機物

土壌は、砂質土と淡色黒ボク土を用いた。また、有機物は稲ワラと汚泥（F汚泥）を用いた。

##### (2) 有機物へのカドミウムの吸着

有機物（汚泥F及び稲ワラ）1gに0~4000mg L<sup>-1</sup>の濃度のCdCl<sub>2</sub>溶液50 mlを加え、2時間振とう後ろ過した。ろ紙上の有機物を水で十分洗った後、風乾した。有機物に吸着されたCd量は、有機物をHClO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub>液で分解した後、原子吸光光度計で測定した。

##### (3) カドミウム吸着有機物の土壌中での分解性

乾土重として20gの砂質土及び淡色黒ボク土を300ml容スチロール瓶に入れ、Cdを少量、中量、多量吸着させた汚泥及び稲ワラを土壌の1%量添加し混合した（表4-5）。稲ワラ添加土には、稲ワラ中の炭素の10分の1量の窒素を硫酸として加えた。さらに、水を最大容水量の60%になるように添加した後、28℃で4週間培養した。また、比較のため、Caを多量に吸着させた有機物を1%量添加した区とCdを土壌に添加した後でCd無吸着の有機物を1%量添加した区を設けて同様に培養した。この場合の土壌へのCd添加量は最大量のCdを吸着した有機物添加時の土壌中濃度相当量とした（表4-5）。この間のCO<sub>2</sub>発生量を測定した。また、4週後に土壌中の

表 4-5 Cd-有機物複合体の分解試験

有機物	Cd吸着量 (g kg <sup>-1</sup> )	Ca吸着量 (g kg <sup>-1</sup> )	Cd添加量 (g kg <sup>-1</sup> 乾土)
汚 泥	0	0	0
	0.17 (少)	0	0
	1.6 (中)	0	0
	13.5 (多)	0	0
	0	4.0	0
	0	0	0.135
稲ワラ	0	0	0
	0.15 (少)	0	0
	1.4 (中)	0	0
	12.5 (多)	0	0
	0	4.3	0
	0	0	0.124

Cdの形態及び細菌数、糸状菌数を測定した。測定法は、第1節、第2節と同じであった。

#### (4) カドミウム吸着汚泥の溶液中での分解性

##### ①微生物の増殖に及ぼすCdの影響

10分の1に希釈しオートクレーブ滅菌したL培地（Lennox培地、液体培地）100mlに、Cd濃度が0、0.1、0.5、1、2、5、10mg L<sup>-1</sup>になるように、ろ過滅菌したCdCl<sub>2</sub>液を添加した。これらの培地に *Pseudomonas putida* の懸濁液及び土壌希釈液（淡色黒ボク土）を0.2ml接種し、30℃で3日間振とう培養した。この間、培養液の550nmの吸光度を経時的に測定し、菌の増殖を調べた。

##### ②汚泥に吸着させたCdが微生物の増殖に及ぼす影響

F汚泥 0.05g及び0.5gを300ml容三角フラスコに入れ、オートクレーブで20分間滅菌した。その後、ろ過滅菌したCdCl<sub>2</sub>溶液100mlを加え、2時間振とうし、汚泥にCdを吸着させた。CdCl<sub>2</sub>溶液を除いた後、過剰のCdを除くため、滅菌水100mlで2回、さらに1/10希釈L培地100mlで2回、汚泥を洗浄した。その後、1/10希釈L培地を100mlを加え、*P. putida*懸濁液及び土壌希釈液0.2mlを接種し、30℃で振とう培養して、①と同様に菌の増殖を調べた。また、培地中の水溶性のCd量を原子吸光光度計で測定した。

##### ③Cd吸着汚泥の分解性

滅菌処理した汚泥0.05g及び0.5gに、②と同様にCdを吸着させて洗浄処理をした場合、及びCdを吸着させず洗浄処理のみを行った場合で分解性を比較した。これらの汚泥に滅菌水100mlを加えた後、土壌希釈液0.2mlを接種し、30℃で4週間振とう培養した。この間、汚泥の分解に伴って生成する培地中のNH<sub>4</sub>-N量、及び培地中の水溶性Cd量を経時的に測定した。NH<sub>4</sub>-N量はオートアナライザーで、Cd量は原子吸光光度計で測定した。

## 2. 結果と考察

### (1) 有機物へのカドミウムの吸着

図4-7に溶液中のCd濃度と有機物に吸着されるCd量との関係を示した。溶液中のCd濃度が高くなるほど有機物に吸着するCd量が多くなったが、Cd濃度が1000mg L<sup>-1</sup>以上になると、有機物に吸着されるCd量は飽和状態



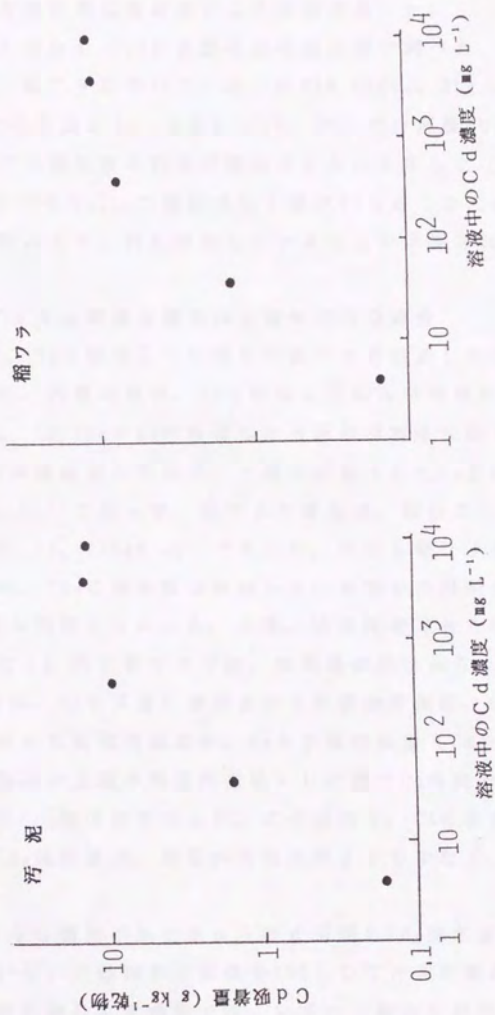


図4-7 有機物へのC dの吸着

となった。Cdの最大吸着量は、汚泥で1g当り13mg、稲ワラで12mgと汚泥と稲ワラの吸着量はほぼ同様な値であった。

有機物に結合したCdの形態を逐次抽出法で調べた。Cdを最大量吸着させた汚泥、稲ワラについて、水、0.05M  $\text{CaCl}_2$ 、25g  $\text{L}^{-1}$  酢酸、0.1M  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で逐次抽出し、さらに $\text{HClO}_4$ - $\text{HNO}_3$ で分解後HClで抽出を行い、各抽出過程で全吸着量の何%が抽出されたかを示した(表4-6)。汚泥、稲ワラとも0.05M  $\text{CaCl}_2$ で抽出される量が80%近くを占め、吸着したCdの大半が有機物にイオンの的に吸着していることが示唆された。

## (2) カドミウム吸着有機物の土壤中での分解性

図4-8に、Cdを吸着した汚泥及び稲ワラを添加した土壌からの $\text{CO}_2$ 発生量を示した。汚泥の場合、Cdを吸着していない対照汚泥、1gあたり0.17mg、1.6mg、13.5mgのCdを吸着した汚泥の分解を比較した。これらの汚泥は土壌に1%量添加したので、土壌に添加されたCd量はそれぞれ、1.7、16、135mg  $\text{kg}^{-1}$ であった。稲ワラの場合は、同様に土壌に添加されたCd量は、1.5、14、124mg  $\text{kg}^{-1}$ であった。汚泥も稲ワラも、Cdを多量に吸着した場合は、 $\text{CO}_2$ の発生量は最初からCd無添加の対照有機物に比べて少なく、4週後も回復しなかった。少量、中量吸着させた場合は、対照とほとんど差がなく、特に稲ワラでは、発生量の差はみられなかった。

図4-9には、Cdを多量に吸着させた有機物添加区、CdのかわりにCaを多量に吸着させた有機物添加区、Cdを土壌に添加(Cdを最大量吸着させた有機物添加時の土壌中濃度相当量)した後でCd無吸着の有機物を1%量添加した区の $\text{CO}_2$ 発生量を示した。この場合も、Cdを吸着させた有機物添加区からの $\text{CO}_2$ 発生量が、最初から他の区よりも少なく、4週後も回復しなかった。

表4-7に各有機物添加土壌からの4週間の $\text{CO}_2$ 発生量をまとめた。Cdを吸着していない有機物の分解量を100としたときの相対値で示した。Cdを少量、中量吸着した有機物では、いずれの場合も対照の95%以上の分解量があり、吸着したCdの影響は小さかった。多量に吸着した場合は、対照の70~80%と分解が抑えられた。CdのかわりにCaを多量に吸着させた場合、あるいはCdを直接土壌に添加し、その後で有機物を添加した場合も、分解量は対照の90%近くまで減少したが、Cdを多量に吸着した場合

表 4-6 有機物に吸着したCdの形態

抽出剤	汚泥	稲ワラ
水	1.0%	2.7%
0.05M 塩化カルシウム	75.4	78.6
25g L <sup>-1</sup> 酢酸	20.0	15.2
0.1M ビロリン酸ナトリウム	3.3	2.8
過塩素酸-硝酸	0.1	0.7
T o t a l	100.0	100.0



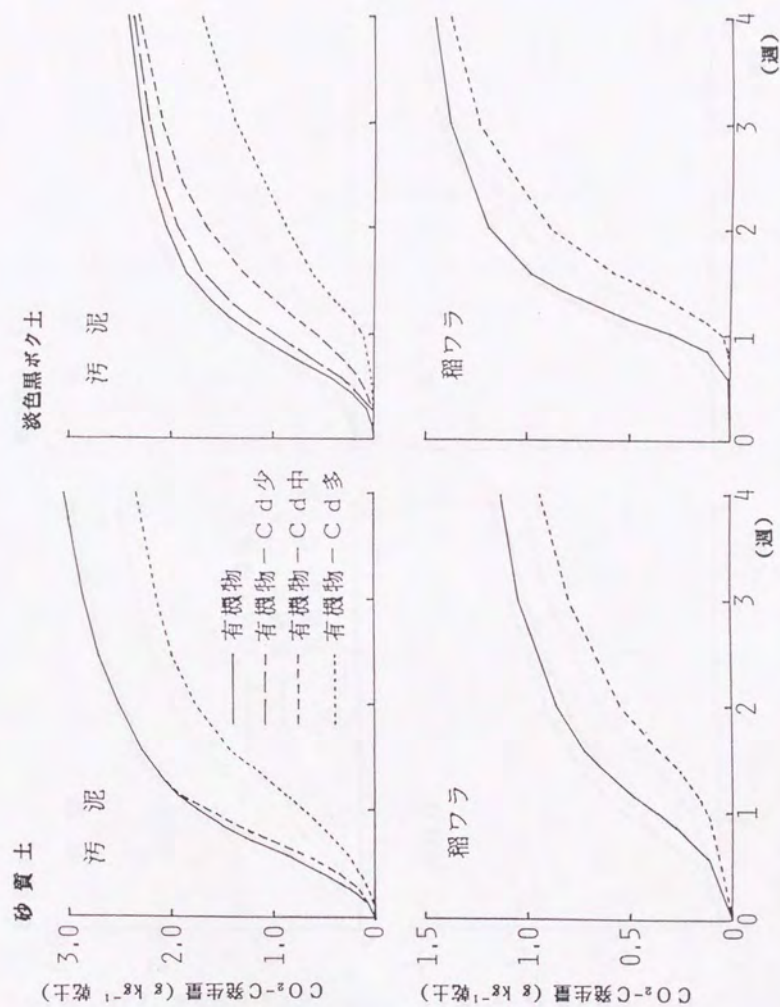


図 4-8 Cd 吸着有機物の土壌中での分解性 (I)

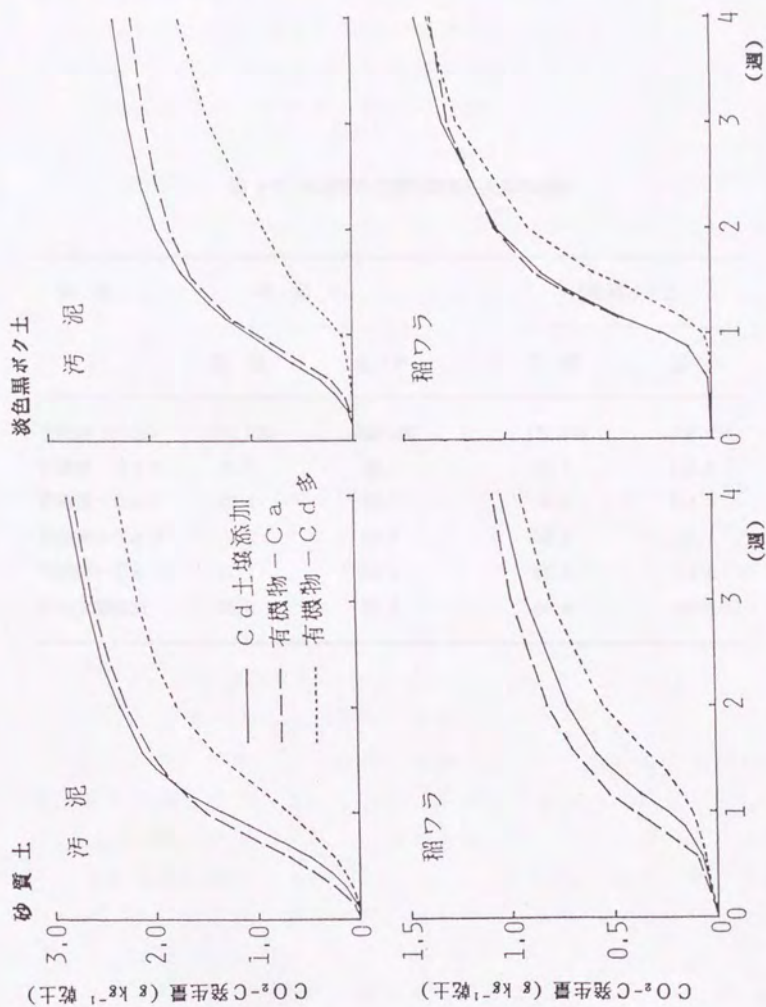


図 4-9  $\text{Cd}$  吸着有機物の土壌中での分解性 (II)

表 4-7 4 週間の二酸化炭素発生量の比較

処 理	砂 質 土		淡色黒ボク土	
	汚 泥	稲ワラ	汚 泥	稲ワラ
有機物（対照）	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
有機物-C d 少	99.5	96.1	98.1	101.8
有機物-C d 中	99.4	98.7	95.6	102.0
有機物-C d 多	76.9	82.8	69.9	95.1
有機物-C a	91.1	95.3	88.9	94.2
C d 土壌添加	93.3	91.2	96.4	99.4



ほどは減少しなかった。つまり、同じ量のCdが土壤中に存在していても、それが有機物に吸着している場合は、分解量がより減少することから、有機物に吸着したCdが有機物の分解を阻害していると考えられる。また、有機物にCaを吸着させた場合も対照有機物に比べて分解性が低下しており、重金属以外の元素でも有機物に吸着して、分解を抑制すると思われる。

表4-8にCdを多量に吸着した有機物を添加した土壤中の4週後のCdの形態を示した。いずれも、0.05M  $\text{CaCl}_2$ で抽出されるCdが多かったが、土壤に添加する前はこれが80%近くを占めていたので、それに比べると、かなり減少した。かわりに25g  $\text{L}^{-1}$ 酢酸で抽出されるCdの割合が増加した。これは、特に汚泥の場合、分解にともなってpHが上昇した影響が大きいと思われ、有機物に吸着していたCdの一部が、有機物の分解の過程で形態変化していることを示している。

表4-9に4週後の土壤中の微生物数を示した。汚泥を添加した砂質土では、汚泥に吸着したCdが増加するほど糸状菌数が減少する傾向にあったが、他の場合はいずれも有機物に吸着したCd量が多いほど、糸状菌数、細菌数とも増加する傾向にあった。したがって、少なくとも土壤微生物数からは、Cdを吸着した有機物の分解性が低下する原因は説明できない。

### (3) カドミウム吸着汚泥の溶液中での分解性

#### ① Cdが微生物の増殖に及ぼす影響

Cd吸着汚泥の溶液中での分解性を調べるにあたり、まず水溶性Cd量と微生物の増殖の関係を調べた。微生物は、土壤中に普通に生存している *P. putida* 及び土壤微生物群（土壤希釈液）を用いた。図4-10に、培地中のCd濃度と微生物の増殖の関係を示した。 *P. putida* 及び土壤微生物群ともCd  $0.1\text{mg L}^{-1}$  では増殖への影響はほとんどみられなかった。Cdが  $0.5\sim 2\text{mg L}^{-1}$  までの濃度では、菌の増殖は遅れたが、3日後までには増殖した。 $10\text{mg L}^{-1}$  では、 *P. putida*、土壤微生物群とも3日間で全く増殖しなかった。したがって、この培地では、Cd濃度が  $10\text{mg L}^{-1}$  では菌が生育不可能と考えられる。

#### ② 汚泥に吸着させたCdが微生物の増殖に及ぼす影響

次に、Cdを汚泥に吸着させた形態で培地に添加した場合の *P. putida* 及

表 4-8 Cdを多量に吸着させた有機物を土壌に添加後4週目のCdの形態

抽出剤	砂質土		淡色黒ボク土	
	汚泥	稲ワラ	汚泥	稲ワラ
水	1.9%	3.3%	0.0%	0.0%
0.05M 塩化カルシウム	33.0	68.2	43.7	48.0
25g L <sup>-1</sup> 酢酸	52.9	20.6	41.5	38.1
0.1M ピロリン酸ナトリウム	9.7	6.1	10.9	10.4
過塩素酸-硝酸	2.5	1.7	3.9	3.5
T o T a l	100.0	100.0	100.0	100.0

表 4-9 C d 吸着有機物を添加後 4 週目の土壤中微生物数 (CFU g<sup>-1</sup> 乾土)

土 壤	有機物	吸着 C d 量 (mg/kg)	糸状菌数 (×10 <sup>3</sup> )	細菌数 (×10 <sup>6</sup> )
砂質土	汚 泥	0	27	7
		1.6	4	7
		13.5	0.3	25
	稲ワラ	0	328	32
		1.4	240	34
		12.4	474	75
淡色黒ボク土	汚 泥	0	351	73
		1.6	1958	196
		13.5	3686	1463
	稲ワラ	0	359	374
		1.4	873	579
		12.4	1403	801



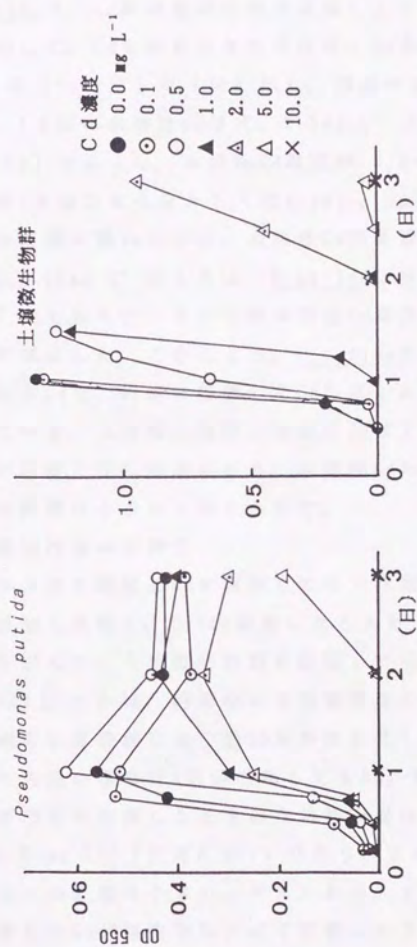


図4-10 微生物の増殖に及ぼすCdの影響

び土壌微生物群の増殖に及ぼす影響を調べた。Cdを吸着させた汚泥0.5g、0.05gを添加したときの培地中の全Cd濃度はそれぞれ39、4mg L<sup>-1</sup>であった。P. putidaは、Cd無添加の汚泥を添加したときは、1日目に大きく増殖したのに対して、Cdを吸着させた汚泥を0.5gあるいは0.05gを添加した場合は、1日遅れて増殖した(図4-11)。培地中の水溶性Cd量を図に点線で示したが、1日目の水溶性Cd量は、2.3mg L<sup>-1</sup>(汚泥0.5g)、0.42mg L<sup>-1</sup>(汚泥0.05g)であった。水溶性Cd濃度が0.5~2mg L<sup>-1</sup>では、P. putidaの増殖が約1日遅れることから(図4-10)、Cd吸着汚泥を添加した培地でP. putidaの増殖が遅れたのは、水溶性Cdの影響と考えられる。また、水溶性Cd濃度が10mg L<sup>-1</sup>のときは、P. putidaは全く増殖しなかったが、Cd吸着汚泥0.5gを加えたときの培地中の全Cd濃度は39mg L<sup>-1</sup>であったにもかかわらず増殖した。このことは、P. putidaの増殖に影響を及ぼすのは主に水溶性のCdで、汚泥に吸着したCdはほとんど影響を及ぼさないことを示唆している。土壌微生物群の増殖に及ぼすCd吸着汚泥の影響も、P. putidaへの影響と同じ傾向にあり、水溶性Cdの影響が大きく、汚泥に吸着したCdの影響は小さいと考えられた。

### ③ Cd 吸着汚泥の分解性

Cdを吸着させた汚泥とCdを吸着していない汚泥の分解性を比較した。汚泥を0.5g添加した時も、0.05g添加した時も、Cdを吸着していない汚泥に滅菌水を加えて、土壌微生物群を接種して培養すると、NH<sub>4</sub>-Nが生成した(図4-12)。これは、汚泥中の有機態窒素の無機化によるもので、4週間で、汚泥中の有機態窒素の約25%が無機化した。これに対して、Cdを吸着させた汚泥の場合は4週間培養してもNH<sub>4</sub>-Nはほとんど生成しなかった。Cd吸着汚泥を培養したときの水溶性Cd量は、最大で4.2mg L<sup>-1</sup>(汚泥0.5g)、0.70mg L<sup>-1</sup>(汚泥0.05g)であり、この濃度では上記の①の結果から微生物への影響は小さいと考えられる。また、上記の②の結果から、汚泥に吸着したCdが微生物に及ぼす影響は小さいと考えられる。したがって、Cd吸着汚泥が分解しないのは、Cdが微生物に影響を及ぼすためではなく、汚泥自体が分解されにくくなるためと考えられる。

Cd吸着汚泥を土壌に加えた場合と水に加えた場合で比較してみると、土壌に加えた場合はかなり分解したのに対して、水に加えた場合はほとんど分解しなかった。これは、土壌に加えた場合は、汚泥に吸着してい

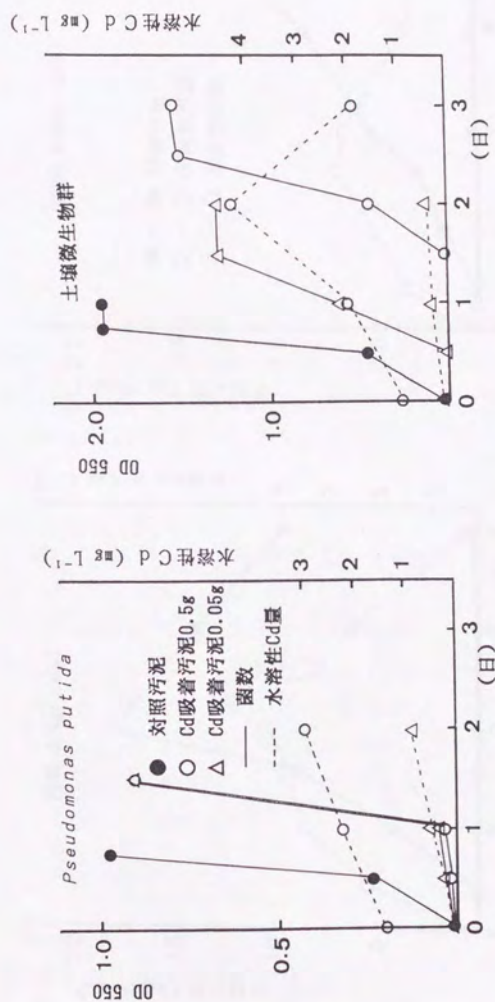


図4-11 汚泥に吸着したCdが微生物の増殖に及ぼす影響



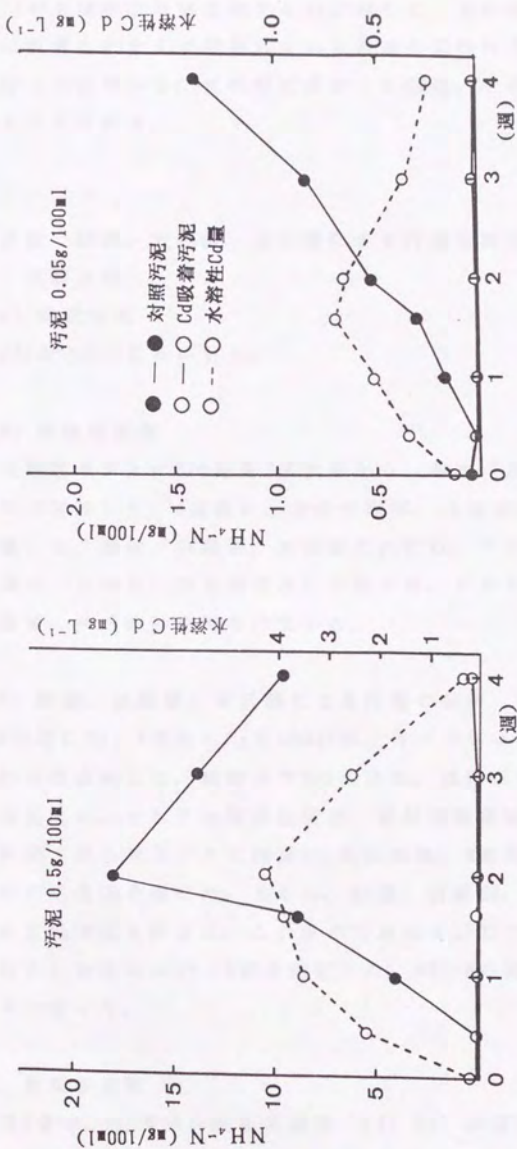


図4-12 Cd吸着汚泥の溶液中での分解性

たCdが土壤中で形態変化するのに対して、水に添加した場合は大半が汚泥に吸着したままで存在しているためと思われる。

以上の結果から、有機物に吸着したCdは、その有機物の分解を抑制すると考えられる。

## 第5節 細菌、放線菌、糸状菌による汚泥分解性の比較

### 1. 実験方法

#### (1) 供試汚泥

D汚泥とF汚泥を用いた。

#### (2) 供試微生物

淡色黒ボク土にD汚泥を2%量添加し、最大容水量の60%の水分条件下、28℃で培養した。4週後に土壤中の細菌、放線菌、糸状菌を希釈平板法で分離した。細菌、放線菌、糸状菌それぞれ、コロニー数の多いもの10株を選び、これら10株を滅菌水に分散させ、それぞれ細菌懸濁液、放線菌懸濁液、糸状菌懸濁液を作製した。

#### (3) 細菌、放線菌、糸状菌による汚泥の分解

D汚泥0.7g、F汚泥0.2gを300ml容三角フラスコにとり、オートクレーブで20分間滅菌した。滅菌水で3回洗浄後、滅菌水100mlを加えた。この滅菌汚泥液に、それぞれ細菌懸濁液、放線菌懸濁液、糸状菌懸濁液、土壤希釈液（淡色黒ボク土に汚泥2%量添加後、4週間経過後の土壤）を1ml添加した処理区を設けた。さらに、細菌、放線菌、糸状菌懸濁液を一緒に加えた処理区も設けた。これらの汚泥液を28℃で3週間振とう培養し、1週おきに溶液中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 量を測定した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ の測定は、オートアナライザーで行った。

### 2. 結果と考察

第3章で、土壤中の重金属濃度（Cd、Zn）が高くなるにつれて、放線菌数が減少するのに対して、糸状菌数が増加し、これに対応して、 $\text{CO}_2$ 発生量が減少することを示した。このことから、重金属によって土壤微生物

相が変化し、そのために $\text{CO}_2$ 発生量が低下すると考えられた。実際に、放線菌から糸状菌への菌相の変化が有機物の分解性に变化をもたらすかどうかを明らかにするために、細菌、放線菌、糸状菌の汚泥の分解性を比較した。

その結果、D汚泥、F汚泥とも細菌、放線菌、糸状菌の中では、放線菌を接種したときの窒素の無機化量が最も多かった（図4-13）。細菌接種時は、最初の3日目までの無機化量は多かったが、1週目以降の無機化量はわずかであった。糸状菌は、D汚泥では、放線菌と同じぐらいの無機化量を示したが、F汚泥では、放線菌の約1/5の無機化量に過ぎなかった。細菌、放線菌、糸状菌を同時に接種しても無機化量が増加するということはなく、むしろ放線菌のみを接種したときよりも減少した。一方、土壌希釈液を接種したときは、D汚泥、F汚泥とも放線菌接種時よりも無機化量が多かった。これは、土壌中には、今回単離した菌以外に汚泥の分解に関与している菌が生息していることを示している。水溶液中での分解は、溶液中への $\text{NH}_4\text{-N}$ の多量集積、それに伴うpHの上昇などの影響で、土壌中での分解とは異なると考えられるが、今回の結果は、放線菌が、細菌、糸状菌以上の汚泥分解能をもっていることを示しており、重金属添加土壌での放線菌の減少が、 $\text{CO}_2$ 発生量の減少と何らかの関係があると推察される。

## 第6節 結論

各種有機物の分解に及ぼすCdの影響を調べ、その結果から、Cdの微生物活性の阻害機構として次の3点が考えられた。

まず、第一に、グルコース、セルロースの分解に及ぼすCdの影響について、土壌中のグルコース、セルロースの残存量、 $\text{CO}_2$ 発生量、土壌中の微生物数、及びバイオマスの指標としてのATP量を調べた結果、Cd添加土壌では、グルコース、セルロースは分解されてほぼ消失するが、 $\text{CO}_2$ 発生量は、Cd濃度が高い土壌ほどわずかながら減少すること、ATP量、糸状菌数はCd濃度が高い土壌で多い傾向にあることが認められた。このことから、Cd添加土壌で $\text{CO}_2$ 発生量が減少するのは、土壌中のバイオマス、特に糸状菌に取り込まれる炭素量が増加するためと考えられた。



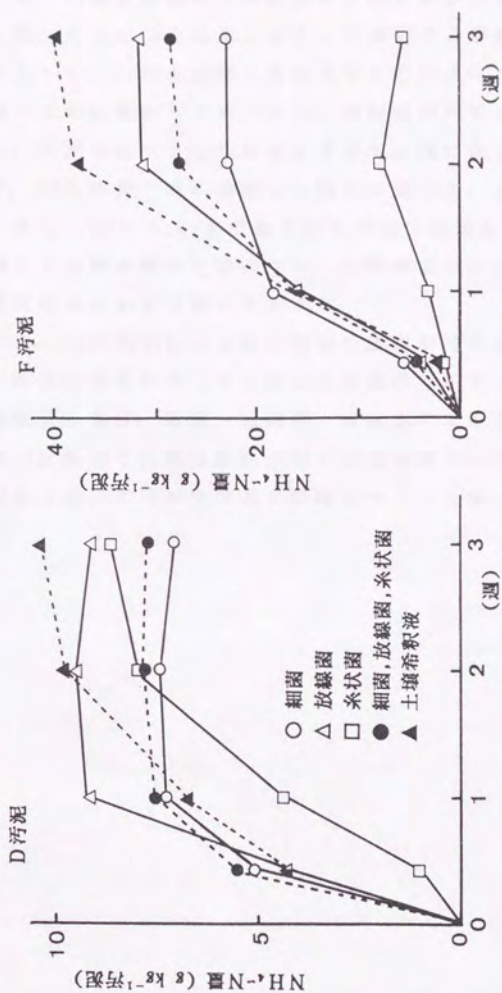


図4-13 細菌、放線菌、糸状菌の汚泥分解性の比較

第二に、各種有機物の分解に及ぼすCdの影響を調べ、比較した結果、汚泥、稲ワラなどCdを吸着しやすい有機物の分解が大きく阻害された。このことから、Cdが有機物に吸着することによって、その有機物を土壌微生物による攻撃からブロックし、分解を抑えていることが考えられた。実際に、汚泥や稲ワラにCdを吸着させて土壌に添加して、分解性を調べた結果、Cdを直接土壌に添加した場合に比べて、分解の阻害度は大きかった。また、同じく、Cdを吸着させた汚泥に滅菌水を添加し、土壌希釈液を接種して分解を調べた結果でも、対照汚泥は分解したのに対して、Cd吸着汚泥はほとんど分解しなかった。

第三に、Cdの添加による微生物相の変化が考えられる。第3章で、土壌中の水溶性Cd濃度が高くなるほど放線菌数が減少し、糸状菌数が増加することを示したが、細菌、放線菌、糸状菌による汚泥の分解性を比較した結果、放線菌の汚泥分解能が高いことが認められ、重金属添加土壌での放線菌の減少が分解性の低下に結びつくことが示唆された。

## 参考文献

- 1) Doelman, P. and Haanstra, L. (1977): Effects of lead on the decomposition of organic matter. *Soil Biol. Biochem.*, 11, 481~485
- 2) Jensen, V. (1977): Effects of lead on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Oikos*, 28, 220~224
- 3) Baath, E. (1989): Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). *Water Air Soil Pollut.*, 47, 335~379
- 4) Jenkinson, D. S. and Rayner, J. H. (1977): The turnover of soil organic matter in some of the Rothamsted classical experiments. *Soil Sci.*, 123, 298~305
- 5) Alexander, M. (1977): *Introduction to Soil Microbiology*. p. 113~222, John Wiley & Sons, Inc., U.S.A.
- 6) 土壤微生物研究会編(1975): 土壤中の微生物活性の測定, 土壤微生物実験法, p. 270~354, 養賢堂, 東京
- 7) Somogyi, M. (1952): Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, 195, 19~23
- 8) Stevenson, F. J. (1965): Gross chemical fractionation of organic matter, *in* *Methods of Soil Analysis, Part 2*, ed. by C. A. Black et al., p. 1401~1407, American Society of Agronomy, Inc. Publishers, Madison, U.S.A.
- 9) Brinck, R. H., Jr., Duback, P. and Lynch, D. L. (1960): Measurement of carbohydrates in soil hydrolyzates with anthrone. *Soil Sci.*, 89, 157~166
- 10) 土壤微生物研究会編(1975): 土壤中の微生物計数法, 土壤微生物実験法, p. 21~42, 養賢堂, 東京
- 11) 土壤微生物研究会編(1975): 土壤細菌実験法, 土壤微生物実験法, p. 43~76, 養賢堂, 東京
- 12) 土壤微生物研究会編(1975): 土壤糸状菌実験法, 土壤微生物実験法, p. 86~107, 養賢堂, 東京



- 13) Jenkinson, D.S. and Oades, J.M. (1979): A method for measuring adenosine triphosphatase in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 11, 193~199
- 14) Jenkinson, D.S. and Ladd, J.N. (1981): Microbial Biomass in soil: Measurement and turnover. in *Soil Biochemistry*, Vol. 5, ed. by Paul, E.A. and Ladd, J.N., 415~471, Marcel Dekker, Inc, New York
- 15) Sparling, G.P. (1985): The soil biomass, in *Soil Organic Matter and Biological Activity*, ed. by Vaughan, D. and Malcolm, R.E., 223~262, Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, Dordrecht
- 16) Jenkinson, D.S. and Powlson, D.S. (1976): The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 8, 209~213
- 17) Brookes, P.C., Heijnen, C.E., McGrath, S.P. and Vance, E.D. (1986): Soil microbial biomass estimates in soils contaminated with metals. *Soil Biol. Biochem.*, 18, 383~388
- 18) Oades, J.M. and Jenkinson, D.S. (1979): Adenosine triphosphate content of the soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 11, 201~204
- 19) Jenkinson, D.S., Davidson, S.A. and Powlson, D.S. (1979): Adenosine triphosphate content and microbial biomass in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 11, 521~527
- 20) Brookes, P.C. and McGrath, S.P. (1984): Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass. *J. Soil Sci.*, 35, 341~346
- 21) Baath, E., Arnebrant, K. and Nordgren, A. (1991): Microbial biomass and ATP in smelter-polluted forest humus. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 47, 278~282
- 22) Chander, K. and Brookes, P.C. (1993): Residual effects of zinc, copper and nickel in sewage sludge on microbial biomass in a sandy loam. *Soil Biol. Biochem.*, 25, 1231~1239

- 23) Killham, K. (1985): A physiological determination of the impact of environmental stress on the activity of microbial biomass. *Environ. Pollut.*, **38**, 283~294
- 24) Ohya, H., Komai, Y. and Yamaguchi, M. (1985): Zinc effects on soil microflora and glucose metabolites in soil amended with  $^{14}\text{C}$ -glucose. *Biol. Fertil. Soils*, **1**, 117~122
- 25) 浅見輝男、久保田正亜、折笠清人(1986): 土壤中カドミウム等重金属の分画と水稻による吸収, 国立公害研究所第1回土壌・地下水汚染シンポジウム報告書, p.109~118
- 26) Tyler, G. (1981): Heavy metals in soil biology and biochemistry. in *Soil Biochemistry*, Vol. 5, ed. by Paul, E.A. and Ladd, 371~413, Marcel Dekker, Inc., New York
- 27) Doelman, P. (1985): Resistance of soil microbial communities to heavy metals. in *Microbial Communities in Soil*, ed. by Jensen, V., Kjoller, A. and Sorensen, L.H. p.369~384, Elsevier Applied Science Publishers, London
- 28) Salonijs, P.O. (1981): Metabolic capabilities of forest soil microbial populations with reduced species diversity. *Soil Biol. Biochem.*, **13**, 11~18



## 第5章 汚泥由来の重金属が土壤微生物活性に影響を及ぼす可能性

### 第1節 緒言

これまでの結果から、重金属が土壤微生物活性に影響を及ぼす場合、特にその形態が重要で、水溶性の重金属は、土壤微生物に影響を及ぼし、土壤中では有機物に吸着した重金属はその有機物の分解を抑えると考えられた。したがって、汚泥中の重金属が土壤微生物活性に及ぼす可能性があるとすれば、土壤中では水溶性の形態になり土壤微生物に影響を及ぼすか、いったん水溶性の形態になった後、土壤有機物に吸着しその分解を抑えるかのどちらかと考えられる。いずれにしろ、土壤中では水溶性の形態にならない限り、影響は小さいと考えられる。

汚泥中の重金属の形態については、従来から、Stoverら<sup>1)</sup>、あるいは Tessierら<sup>2)</sup>の逐次抽出法で調べられている<sup>3-6)</sup>。それらの結果によると、汚泥中の重金属の形態は、汚泥の種類により、また重金属の種類により大きく異なっている。しかし、水溶性の形態のものは、石灰汚泥で水溶性のCuが全量の約14%と極めて高い値を示す場合もある<sup>3)</sup>が、一般に、全量の数%程度と少ない値になっている<sup>3-5)</sup>。汚泥を土壤に施用した場合、汚泥中の重金属も形態変化すると考えられるが、可給性の形態のものは、一般に、減少する傾向にある<sup>7) 8)</sup>。一方、標識した重金属を添加して作成した人工汚泥を土壤に施用し、大麦を栽培し汚泥由来の重金属の吸収量を調べると、施用4ヶ月後に吸収量が増加することも報告されている<sup>9)</sup>。

また、汚泥を施用した土壤中での重金属の形態は、土壤の種類によっても異なり、植物の重金属吸収量は一般に酸性の土壤で増加する<sup>10) 11)</sup>。pH以外の土壤の性質、例えば、CECや土性と植物の重金属吸収量の関係ははっきりした傾向がみられていない<sup>12)</sup>。したがって、汚泥施用土壤中の重金属が可溶化するとすれば、酸性の土壤あるいは土壤が酸性化したときと考えられる。

本章では、まず、汚泥及び汚泥連用土壤中での重金属の形態を調べた。さらに、汚泥及び汚泥添加土壤から種々の濃度の酸溶液で溶出される重金属量を調べ、pHと重金属溶出量の関係から、汚泥中の重金属が溶出する条件を明らかにすることを試みた。これらの結果から、汚泥中の重



金属が土壤微生物活性に影響を及ぼす可能性について考察した。

## 第2節 汚泥および汚泥連用土壤中の重金属量と形態

### 1. 実験方法

#### (1) 供試汚泥と供試土壌

汚泥は第1章で用いたのと同じA、B、C、D、E、Fの6種類を用いた。

また、土壌は、C汚泥を連用した淡色黒ボク土を用いた。すなわち、淡色黒ボク土を充填した室内ライシメーター（直径1.7m、深さ2.3m）に半年に一回の割合で4年間にC汚泥を計8回連用した<sup>13)</sup>。1回の施用量は、乾物として $50\text{Mg ha}^{-1}$ で、粉碎後表層約10cmの深さの土壌に混合した。汚泥施用前及び1、2、3、4、8回目の施用約半年後に表層約5cmの土壌を採取した。2mmのふるいを通した後、風乾し実験に供試した。

#### (2) 重金属の分析

6種類の汚泥中のCd、Cr、Cu、Ni、Pb、Znの形態を調べた。測定は、前章までと同じく、汚泥1gを50mlの水、 $0.05\text{M CaCl}_2$ 、 $25\text{g L}^{-1}$ 酢酸、 $0.1\text{M Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で逐次抽出し、さらに $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ で分解後 $1\text{M HCl}$ で抽出し、各抽出液中の重金属量を原子吸光光度計で測定した。

また、汚泥を8回連用した土壌について、Cd、Cr、Cu、Ni、Pb、Zn量を測定した。測定は、 $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ で分解後 $1\text{M HCl}$ で抽出し、原子吸光光度計で行った。さらに、汚泥施用前、1、2、3、4、8回施用後の土壌について、ZnとCuの形態を逐次抽出法で調べた。

### 2. 結果と考察

汚泥中の重金属の形態は、汚泥によりまた重金属により異なった（表5-1、5-2）。全体的に、Znは $25\text{g L}^{-1}$ 酢酸で抽出される量が多く、Pbは $0.1\text{M Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で、またCu、Ni、Crは $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ で分解後抽出される量が多かった。Cdは全量が少ないこともあって、特に多く抽出される画分はなかった。水で抽出される画分が比較的多いのはCuで、4種類の汚泥で $20\text{mg kg}^{-1}$ 以上の水溶性Cuを含んでいた。鎌田ら<sup>9)</sup>も特に石灰汚泥が水溶性のCu含量を多く含み、平均で14%であることを示したが、ここでも石

表 5-1 汚泥中の重金属の形態 (その1)

汚泥		抽 出 剤					Total
		水	CaCl <sub>2</sub>	酢酸	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	HClO <sub>4</sub> -HNO <sub>3</sub>	
		mg kg <sup>-1</sup> 乾物					
Z n	A	3.2	9.9	172.7	36.8	65.2	287.7
	B	2.2	0.5	259.6	65.3	20.4	347.9
	C	3.7	1.2	633.7	121.7	43.5	803.7
	D	5.8	36.4	733.7	228.9	96.9	1101.7
	E	11.2	54.5	392.0	54.1	24.5	536.3
	F	11.7	106.3	277.3	22.8	44.9	462.9
C u	A	2.4	1.0	20.2	27.9	47.6	99.2
	B	40.9	17.7	15.8	32.4	39.8	146.5
	C	57.1	17.1	28.6	70.9	91.0	264.7
	D	7.9	3.5	26.7	56.4	129.6	224.1
	E	24.7	4.9	32.3	47.4	67.6	176.9
	F	57.8	20.4	261.5	114.5	194.9	649.1
C d	A	0.18	0.25	0.37	0.31	0.10	1.2
	B	0.14	0.21	0.54	0.20	0.26	1.4
	C	0.09	0.00	0.75	0.20	0.32	1.4
	D	0.09	0.21	0.76	0.41	0.37	3.2
	E	0.14	0.41	0.75	0.31	1.60	3.2
	F	0.23	0.05	0.21	0.26	0.21	1.0

表5-2 汚泥中の重金属の形態（その2）

汚泥		抽 出 剤					Total
		水	CaCl <sub>2</sub>	酢酸	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	HClO <sub>4</sub> -HNO <sub>3</sub>	
		mg kg <sup>-1</sup> 乾物					
N i	A	1.1	1.2	4.7	0.6	16.7	24.3
	B	4.5	1.2	7.7	0.0	4.8	18.2
	C	5.6	3.6	10.6	0.0	16.8	36.5
	D	2.3	2.4	8.4	1.2	33.4	47.7
	E	10.0	7.1	14.8	1.8	38.4	72.1
	F	21.0	27.2	32.9	1.7	14.9	97.8
C r	A	0.6	0.7	1.5	2.4	20.7	25.9
	B	1.2	1.5	4.5	8.0	14.0	29.1
	C	1.2	3.0	8.9	22.2	60.7	96.0
	D	0.0	1.5	1.5	6.4	93.3	102.7
	E	1.2	1.5	3.0	6.3	83.3	95.3
	F	2.4	3.0	10.3	28.4	27.6	71.7
P b	A	2.1	4.1	2.0	24.7	14.7	47.5
	B	0.0	6.2	4.1	37.6	4.3	54.4
	C	2.1	6.2	6.1	31.0	6.3	51.6
	D	0.0	8.4	4.1	37.6	4.3	54.4
	E	2.1	8.3	4.1	28.9	0.0	43.3
	F	0.0	6.2	10.1	61.6	6.3	84.2



灰汚泥（B、C汚泥）で水溶性Cuの割合は高く、B汚泥では全量の30%近くが水溶性Cuであった。ほかに、F汚泥のNi、E及びF汚泥のZnの水溶性量が比較的多かったが、他は $10\text{mg kg}^{-1}$ 以下であった。

汚泥の連用によって、土壤中の重金属量はいずれも増加した。特に、汚泥中の濃度の高いZnは対照土の約9倍に増加した（表5-3）。そのほか、汚泥中の濃度が比較的高いCuも、汚泥の連用によって土壤中濃度は約2倍に増加した。Pb、Cr、Cdの濃度も高くなったが、対照土の2倍以下であった。全体的に、汚泥と土壤の濃度比の高い重金属ほど、汚泥連用土壤中の濃度が高くなった。

土壤中濃度の増加の大きかったZnとCuについてその土壤中での形態を調べ表5-4に示した。汚泥施用前の土壤中のZnは、大半が $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ で分解後に抽出される難溶性の形態で、他の抽出剤で抽出される量はわずかだった。汚泥の連用を重ねるごとにZn量は増加したが、増加分の大半は酢酸で抽出されるZn量で占められていた。そのほか、 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出される量も増加したが、水、 $\text{CaCl}_2$ で抽出されるZn量は、汚泥を連用してもほとんど変化せず、いずれも $1\text{mg kg}^{-1}$ 以下であった。汚泥連用によって、酢酸で抽出されるZn量が増加するのは、汚泥中にこの画分のZnが多いため、連用した汚泥中のZnは土壤中でほとんど形態変化しなかったと推定される。

Cuも汚泥施用前の土壤では、 $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ で分解後に抽出される量が多く、そのほかZnに比べると $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出される量が比較的多かった。汚泥の連用によって、 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出される量が増加し、その他では酢酸で抽出される量がわずかに増加するのみだった。汚泥中には水溶性のCuがかなり含まれていたが、連用土壤では、水、 $\text{CaCl}_2$ で抽出される量は、いずれも検出限界以下で、Znと同様汚泥を連用しても増加しなかった。したがって、汚泥に含まれていた水溶性のCuは、土壤に施用後不溶性の形態に変化したと考えられる。増加が大きかった画分は $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出される画分、すなわち有機物に結合していると考えられる画分で、汚泥中の水溶性のCuは主に土壤中の有機物に結合したため、水で抽出されなくなったと推定される。

表 5-3 汚泥及び汚泥を8回連用した土壤中の重金属含量 ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
汚 泥	1.66	78.5	196	36.1	52.8	1034
汚泥連用土	0.73	97.6	169	34.7	39.9	580
対照土	0.58	65.6	88	34.2	27.2	64

表 5-4 汚泥連用土壤中の亜鉛及び銅の形態

連用回数		抽 出 剤					Total
		水	CaCl <sub>2</sub>	酢酸	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	HClO <sub>4</sub> -HNO <sub>3</sub>	
		mg kg <sup>-1</sup> 乾土					
Z n	0	0.38	0.26	5.1	3.0	55.4	64.2
	1	0.37	0.51	34.3	10.6	71.7	117.8
	2	0.38	0.25	82.9	19.0	76.9	179.5
	3	0.30	0.38	143.9	34.7	90.3	269.3
	4	0.25	0.38	173.8	42.0	92.4	308.9
	8	0.75	0.25	292.0	69.3	94.2	480.6
	汚泥	3.7	1.2	633.7	121.7	43.5	803.7
C u	0	0.0	0.0	2.3	14.1	70.9	87.6
	1	0.0	0.0	5.1	21.1	70.5	96.6
	2	0.0	0.0	9.2	25.7	75.5	110.4
	3	0.0	0.0	9.7	30.3	76.3	116.8
	4	0.0	0.0	9.2	30.2	69.5	109.3
	8	0.0	0.0	14.1	47.1	72.5	136.1
	汚泥	57.1	17.1	28.6	70.9	91.0	264.7



### 第3節 汚泥中の重金属の可溶化の可能性

#### 1. 実験方法

##### (1) 供試土壌と供試汚泥

汚泥は、石灰と塩化鉄を凝集剤としたC汚泥、高分子化合物を凝集剤としたD汚泥とE汚泥の3種類を用いた。

土壌は、第3章で用いたのと同じ、砂質土、沖積土、淡色黒ボク土、黒ボク土を用いた。

##### (2) 汚泥及び土壌からの酸による重金属の溶出

汚泥及び土壌から重金属が溶出する場合、どのぐらいのpHになると溶出してくるのか、pHと汚泥及び土壌からの重金属溶出量との関係を調べた。各汚泥及び淡色黒ボク土1gにさまざまな濃度の酸溶液50mlを加えて室温で1時間振とう後、ろ過して、ろ液のpHと溶出されてくるZn、Cu含量を測定した。Zn、Cuの測定は、原子吸光光度計で行った。抽出には、塩酸、硫酸、硝酸、酢酸の4種類の酸を用いた。

##### (3) 汚泥添加土壌からの酸による重金属の溶出

土壌に汚泥を添加した場合、土壌の種類によって溶出される重金属量に差が生じるのかどうかを検討した。砂質土、沖積土、淡色黒ボク土、黒ボク土の4種類の土壌それぞれに、3種類の汚泥を5%量添加して、25℃で4週間培養した。4週後に、各土壌を風乾して、乳鉢で粉碎し、その1gに種々の濃度の $\text{HNO}_3$ 液50mlを加え1時間振とう後ろ過し、ろ液のpHとZn、Cu量を測定した。

##### (4) 汚泥施用後長期間経過した土壌からの酸による重金属の溶出

汚泥を土壌に施用した後、時間の経過とともに酸による重金属の溶出性に変化するかどうかについて検討した。土壌は、第2節と同じく、C汚泥を8回連用した室内ライシメーターの淡色黒ボク土を用いた。最後の汚泥施用した直後、1年後、2年後、6年後、10年後に表層約5cmの土壌を採取した。各土壌を風乾後、乳鉢で粉碎し、その1gに種々の濃度の $\text{HNO}_3$ 液50mlを加え1時間振とう後ろ過し、ろ液のpHとZn、Cu量を測定した。

## 2. 結果と考察

### (1) 汚泥からの酸による重金属の溶出

図5-1に、各汚泥及び淡色黒ボク土からの酸抽出液のpHとZn溶出量との関係を示した。Zn溶出量は、全Zn量のうちの溶出される%で示してある。C汚泥の場合、どの酸でも抽出液のpHが約6.5以下になると溶出量が増加しはじめ、さらにpHが低下すると溶出量はさらに増加し、pH2ではほぼ100%が溶出した。D汚泥とE汚泥では、溶出量が増加しはじめる時のpHはC汚泥よりもやや低く約5.5だったが、pHの低下とともに溶出量は増加し、pH2ではC汚泥と同様ほぼ100%が溶出した。一方、淡色黒ボク土では、抽出液のpHが1以下でも抽出されるZn量は土壤中の全Zn量の約5%にすぎなかった。このように、汚泥中のZnは土壤中のZnに比べると、酸によって非常に溶出され易い形態で存在していることを示している。また、酸の種類によるZn溶出量の差は小さく、溶出量は酸の種類に関係なく抽出液のpHによって決まるものと考えられる。

図5-2には、同じく抽出液のpHと抽出されるCu量との関係を示した。Cuの場合は、いずれの汚泥でも抽出液のpHが高くても数%は溶出されたが、pHが低くなって、4以下になると溶出量が大きく増加し、pH1では、約80%が溶出した。淡色黒ボク土ではpH3以下になると溶出量が増加したが、pH1でも約30%しか溶出されず、Znと同様汚泥中のCuは、土壤中のCuより酸で溶出されやすい形態で存在していることを示している。酸の種類によるCu溶出量の差は小さく、Cuの溶出量も酸の種類に関係なく抽出液のpHによって決まるものと考えられる。また、ZnとCuを比べると、Cuの方が酸で溶出しにくく、より低いpHにならないと溶出量は増加しなかった。

### (2) 汚泥添加土壌からの酸による重金属の溶出

図5-3に、各土壌及び汚泥添加土壌から、種々の濃度の $\text{HNO}_3$ 液で抽出されるZn量と抽出液のpHの関係を示した。土壌自体からのZn溶出量は、pHが低下したときに、黒ボク土で他の土壌より多い傾向にあったが、pH1でも溶出量は $10\text{mg kg}^{-1}$ 以下と少なかった。汚泥を添加した土壌では、pHが約5.5以下になると、どの土壌でも溶出量は増加するが、その溶出量はどの汚泥を添加した場合でも、砂質土で多く、沖積土で少ない



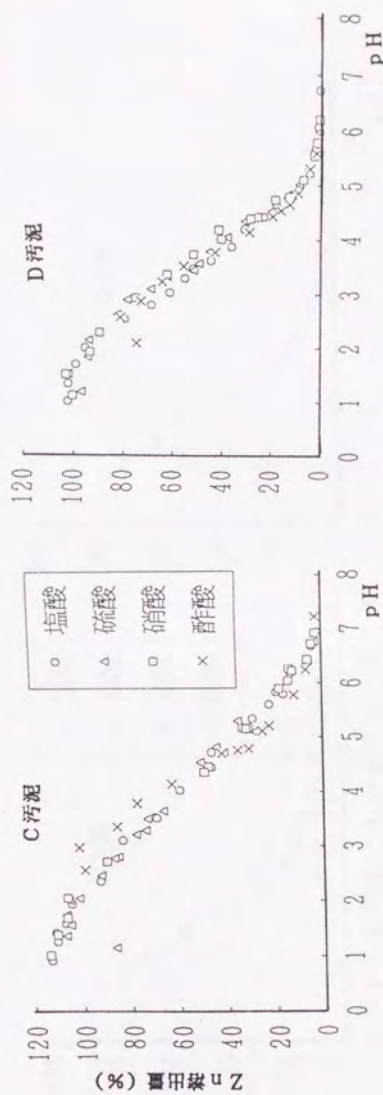


図5-1 汚泥及び土壌からの鉛の酸による溶出



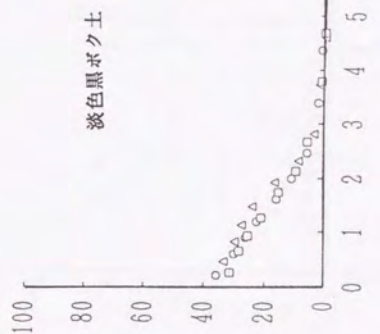
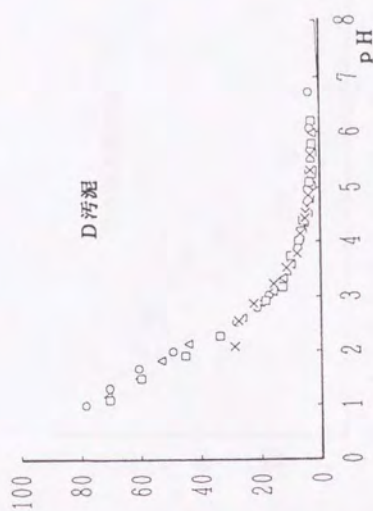
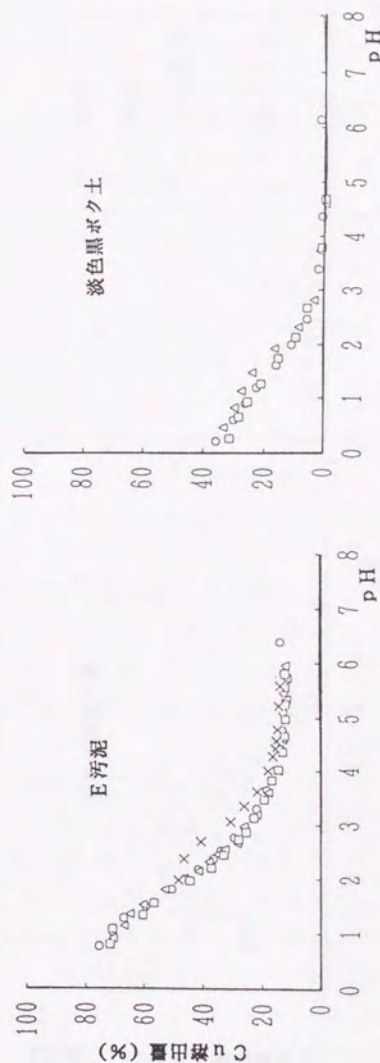
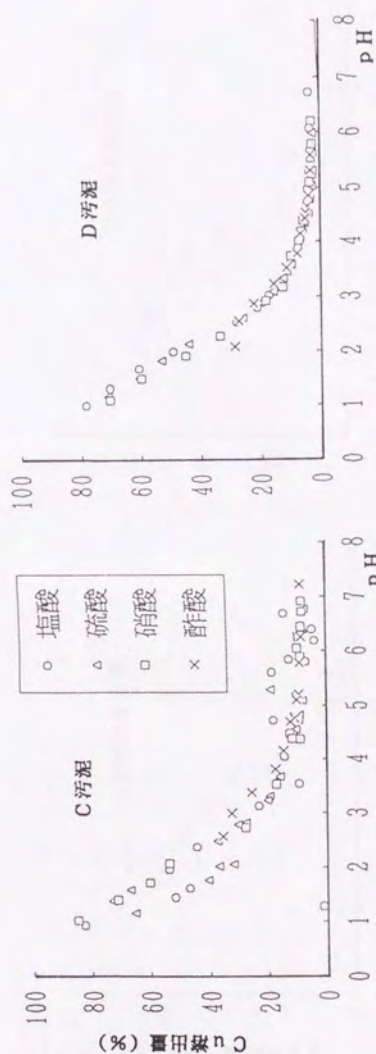


図5-2 汚泥及び土壌からの酸による銅の溶出

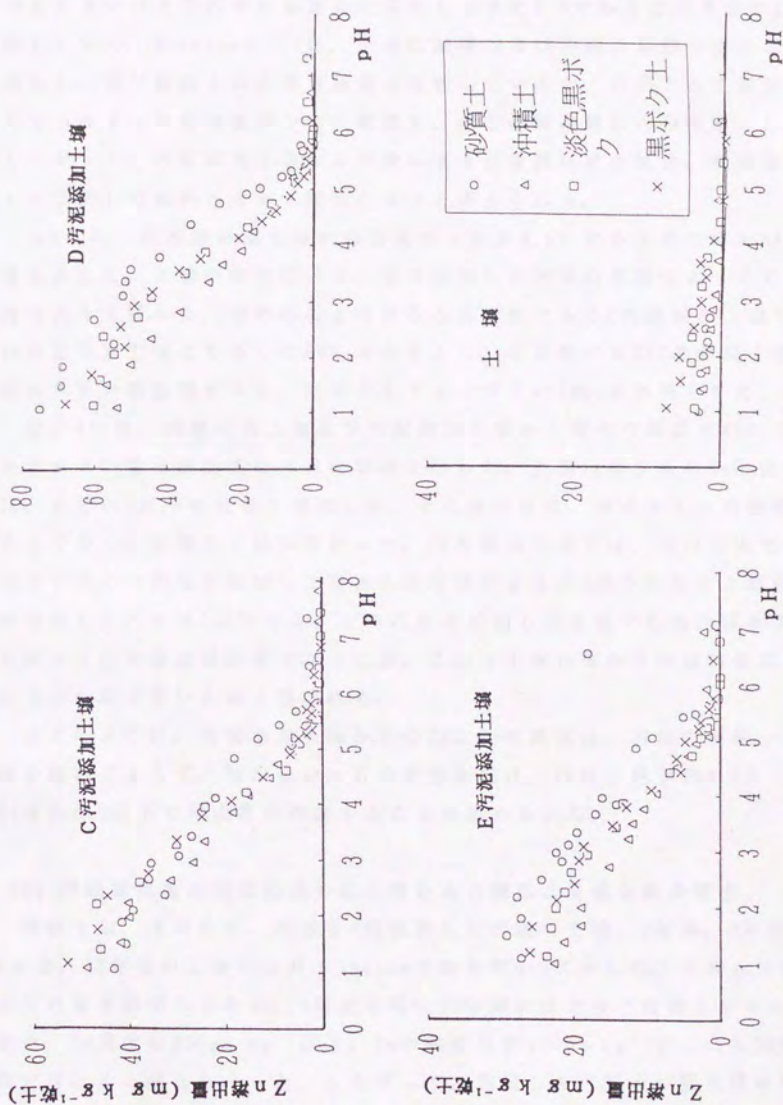


図5-8 汚泥添加土壌からの鉛による亜鉛の溶出

傾向にあった。しかし、溶出量が増加しはじめるときのpHはどの土壌でもあるいはどの汚泥を添加した場合もおよそ5.5であるという点では一致していた。Kiekensら<sup>14)</sup>は、土壌に無機塩及び汚泥の形態で重金属を添加し、酸で溶出される重金属量を比較しているが、汚泥として添加した方がわずかに溶出量が少ない程度で、両者の溶出量に大差なかった。したがって、汚泥添加土壌からの酸による重金属の溶出性は、無機塩として添加した場合と大きく変わらないと考えられる。

表5-5に、各汚泥添加土壌の抽出液のpHが5.5になるときの添加 $\text{HNO}_3$ 量を示した。土壌の種類により、また添加した汚泥の種類によってその量は大きく異なり、当然のことながら石灰汚泥であるC汚泥添加土壌で他の汚泥添加土壌より多くの $\text{HNO}_3$ を必要とし、土壌間ではCEC値が高く緩衝能の大きい淡色黒ボク土、黒ボク土でより多くの $\text{HNO}_3$ を必要とした。

図5-4には、同様に各土壌及び汚泥添加土壌から種々の濃度の $\text{HNO}_3$ で抽出されるCu量と抽出液のpHの関係を示した。土壌自体からのCu溶出量は、pHが3以下になると増加した。その溶出量は、黒ボク土と淡色黒ボク土で多く、砂質土では少なかった。汚泥添加土壌では、どの土壌でもあるいはどの汚泥を添加した場合も抽出液のpHが4以下になると溶出量が増加した。pH3以下では、どの汚泥を添加した土壌でも淡色黒ボク土と黒ボク土で溶出量が多くなったが、これは土壌自体からの溶出量がこれらの土壌で多いためと思われる。

以上のように、汚泥添加土壌からのZn、Cuの溶出は、汚泥の種類、土壌の種類によらず、抽出液のpHの影響を受け、ZnはpHが約5.5以下、Cuは約4.0以下で溶出量が増加することが認められた。

### (3) 汚泥施用後長期間経過した土壌からの酸による重金属の溶出

供試土壌、すなわち、汚泥を8回連用した直後の土壌、1年後、2年後、6年後、10年後の土壌のpHとZn、Cu含量を表5-6に示した。土壌pHは石灰汚泥を連用したため、8以上と高く10年間にほとんど変化しなかった。また、Zn濃度は $500\text{mg kg}^{-1}$ 以上、Cuの濃度は約 $170\text{mg kg}^{-1}$ でこれも10年間でほとんど変化なかった。したがって、施用した汚泥中の重金属は10年後も大半が表層土壌にとどまっていると考えられる。

これらの土壌について、種々の濃度の $\text{HNO}_3$ で抽出されるZn、Cu量と抽



表 5-5 土壌 pH 及び土壌抽出液の pH が  
5.5 になるときの添加硝酸量

土 壌	添加汚泥	pH	硝酸量 (mmol kg <sup>-1</sup> 乾土)
砂質土	C	8.5	162
	D	8.2	56
	E	8.4	30
沖積土	C	8.2	154
	D	7.7	51
	E	7.8	62
淡色黒ボク土	C	7.6	220
	D	7.0	98
	E	7.2	108
黒ボク土	C	7.0	164
	D	6.5	76
	E	6.8	76

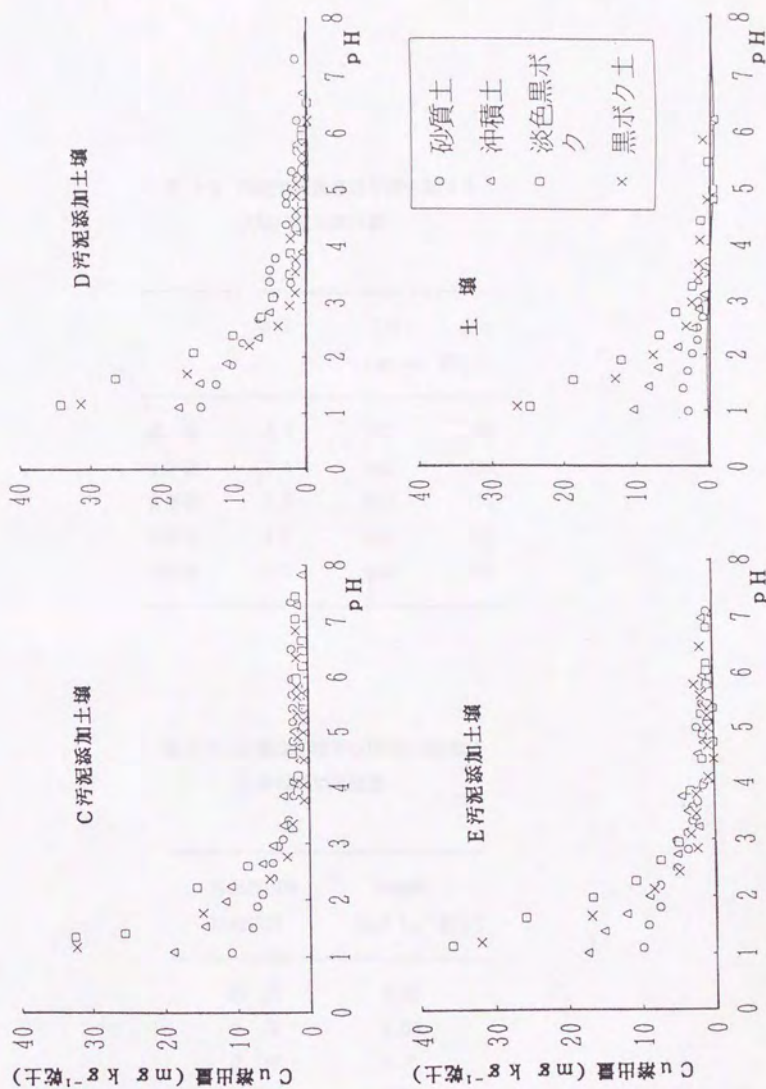


図5-4 汚泥添加土からの銅の溶出

表 5-6 汚泥施用後経過年数の異なる  
土壌の重金属含量

	pH	Zn (mg kg <sup>-1</sup> 乾土)	Cu
直 後	8.3	580	169
1 年後	8.4	550	169
2 年後	8.5	610	173
6 年後	8.5	592	175
10 年後	8.5	640	176

表 5-7 土壌抽出液の pH が 5.5 になる  
ときの添加硝酸量

汚泥施用後 経過年数	硝酸量 (mol kg <sup>-1</sup> 乾土)
直 後	1.52
1 年	1.03
2 年	1.35
6 年	1.08
10 年	0.85



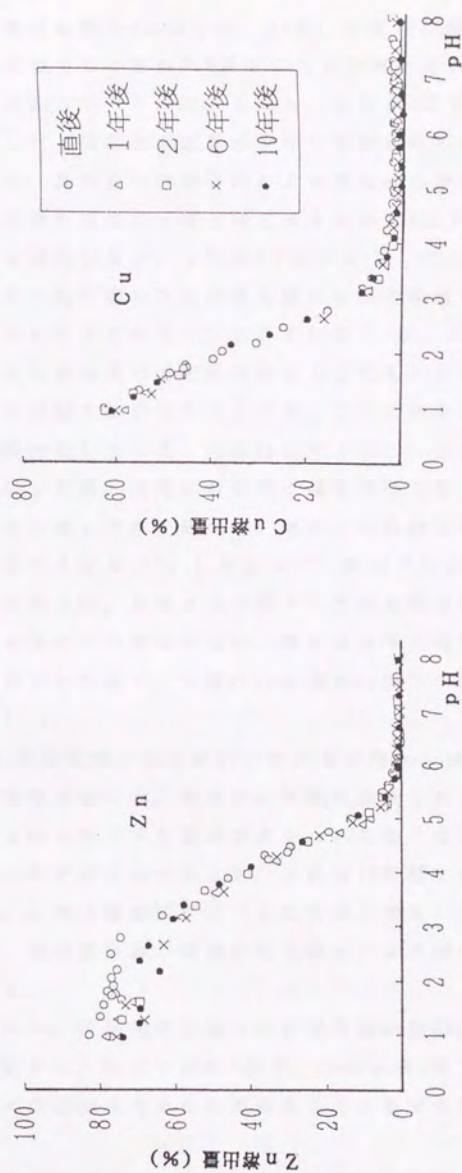


図5-5 汚泥施用後経過年数が異なる土壌からの酸による重金属の溶出

出液のpHの関係を図5-5に示した。Znは、汚泥施用後の経過年数にかかわらず、どの土壌でもpHが5.5以下になると溶出量が増加し、溶出量にもほとんど差がみられなかった。しかし、pHが3以下になると、施用後の時間が経過した土壌ほど溶出量が少ない傾向がみられた。Cuの場合もZnと同じように、施用後の経過年数による溶出性の差はほとんどなく、10年経過した土壌も直後の土壌と同じようにpH4以下で溶出量が増加し、その溶出量もほぼ同じ量で、pHが1ぐらいになってもほとんど変わらなかった。一般に土壌に添加された重金属は時間の経過とともに土壌に固定されて可溶化しにくくなるといわれている<sup>15)</sup>が、この場合少なくとも10年では酸による重金属の溶出性はほとんど変化してないと考えられる。したがって、長期間土壌表層中にとどまっていた重金属でも、何らかの原因で土壌が酸性化した場合、可溶化してくることは十分考えられる。汚泥施用土壌のpHは、汚泥に含まれる凝集剤に左右され、石灰を凝集剤とした汚泥は土壌pHを上昇させ、高分子化合物を凝集剤とした汚泥は逆にpHを低下させる<sup>16)</sup>。したがって、高分子化合物を凝集剤とした汚泥を施用した場合は、土壌pHが低下して重金属が溶出し、土壌微生物活性に影響を及ぼす可能性が高い。現に高分子化合物を凝集剤とした汚泥を長期連用した土壌で、多量のZnが溶出し地下へ浸透することが報告されている<sup>17)</sup>。

表5-7に、土壌抽出液のpHがZnの溶出量が増加しはじめる5.5になるときのHNO<sub>3</sub>添加量を示した。施用後の年数が経過した土壌ほど、より少ないHNO<sub>3</sub>量でpHが低下する傾向にあり、10年後の土壌では連用直後の土壌に比べて、約半分の量であった。これは10年間に有機物の分解やCaの溶脱などで、土壌の緩衝能が低下したためと考えられ、同じ量の酸が加わった場合、施用後年数が経過した土壌ほどより酸性になりやすいことを示している。

以上の結果から、汚泥施用土壌からの重金属の溶出は、土壌の種類よりもpHに支配され、ZnはpH5.5以下、CuはpH4以下になると溶出量が増加し、これは汚泥施用後長期間経過した土壌でも変わらないと考えられた。

したがって、汚泥中の重金属が土壌微生物活性に影響を及ぼす可能性があるとするれば、土壌pHが5.5以下のときで、pHが低くなるほど重金



属の影響は大きくなると考えられる。一方、土壌pHが5.5以上のときは、施用量をどれだけ多くしても汚泥中の重金属が微生物活性に及ぼす影響は小さいと考えられる。

#### 第4節 結論

汚泥中の重金属が微生物活性に影響を及ぼすとすれば、汚泥中の水溶性の重金属あるいは土壌に施用後可溶化する重金属と考えられる。汚泥中の重金属の形態、汚泥連用土壌の重金属の形態、及び酸によるZnとCuの溶出を調べ、汚泥中の重金属が土壌微生物活性に影響を及ぼす可能性を検討した。

6種類の汚泥中の重金属の形態を逐次抽出法で調べた結果、汚泥によってばらついたが、水溶性の量が比較的多かったのはCuで、特に、石灰汚泥でその割合が高かった。Znは $25\text{g L}^{-1}$ 酢酸で抽出される画分が大半を占め、Cr、Ni、Pbは $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ で分解後に抽出される難溶性の画分が多かった。石灰汚泥を連用した土壌中のZnは、酢酸で抽出される画分の増加が大きく、汚泥中のZnが土壌に添加後もそのままの形態で保持されると考えられた。一方、Cuは $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出される画分が増加し、他の画分はほとんど増加しなかった。したがって、汚泥中の水溶性のCuも土壌に施用されると、土壌成分、特に有機物に吸着されることが示唆された。

また、汚泥施用土壌からの酸による重金属の溶出の可能性を明らかにするため、各種汚泥、及び汚泥添加土壌から種々の濃度の酸で重金属を抽出し、抽出液のpHとZn、Cuの溶出量の関係を調べた。汚泥の種類、土壌の種類によらず、Znは抽出液のpHが約5.5が以下、Cuは約4以下で溶出量が増加した。これは、汚泥施用後約10年経過した土壌でも変わらなかった。したがって、汚泥施用後長期間経過した土壌でも、土壌pHが5.5以下に低下した場合には、重金属の溶出量が増加すると考えられる。

以上の結果から、汚泥中の重金属が土壌微生物活性に影響を及ぼす可能性として、次の二点が考えられる。第一に、水溶性のCuが多い汚泥を施用した場合、水溶性Cuが土壌有機物に吸着しその分解を抑えること、第二に汚泥を施用した土壌がpH5.5以下の酸性になった場合、汚泥中の重金属が可溶化し、土壌微生物に影響を及ぼすことである。



# 参考文献

- 1) Stover, R.C., Sommers, L.E. and Silveira, D.J. (1976): Evaluation of metals in waste water sludge. *Water Pollut. Control Fed.*, 48, 2165~2175
- 2) Tessier, A., Campbell, P.G.C. and Bisson, M. (1979): Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal. Chem.*, 51, 844~851
- 3) 鎌田賢一, 南松雄 (1981): 下水汚泥中の重金属の形態, *日本土壤肥科学雑誌*, 52, 385~391
- 4) 橋原順, 江木誠, 野上祐作, 石井猛 (1990): 活性汚泥中の重金属の存在形態について, *日本農芸化学会誌*, 64, 151~155
- 5) Elliot, H.A., Dempsey, B.A. and Maille, P.J. (1990): Content and fractionation of heavy metals in water treatment sludges. *J. Environ. Qual.*, 19, 330~334
- 6) Dudka, S. and Chlopecka, A. (1990): Effect of solid-phase speciation on metal mobility and phytoavailability in sludge amended soil. *Water Air Soil Pollut.*, 51, 153~160
- 7) Kelling, K.A., Keeney, D.R., Walsh, L.M. and Ryan, J.A. (1977): A field study of the agricultural use of sewage sludge: III. Effect on uptake and extractability of sludge-borne metals. *J. Environ. Qual.*, 6, 352~358
- 8) Emmerich, W.E., Lund, L.J., Page, A.L. and Chang, A.C. (1981): Solid phase forms of heavy metals in sewage sludge treated soils. *J. Environ. Qual.*, 11, 178~181
- 9) 尾和尚人 (1983): 下水汚泥施用に伴う重金属の挙動, 下水汚泥の緑農地利用—国際シンポジウム会議録—, 下水汚泥資源利用協議会編, 138~157
- 10) Jackson, A.P. and Alloway, B.J. (1991): The transfer of cadmium from sewage-sludge amended soils into the edible components of food crops. *Water Air Soil Pollut.*, 57, 873~881
- 11) Tadesse, W., Shuford, J.W. and Taylor, R.W. (1991): Comparative

- availability to wheat of metals from sewage sludge and inorganic salts, *Water Air Soil Pollut.*, 55, 397~408
- 12) Sommers, L., Volk, V.V., Giordano, P.M. Sopper, P.M., Bastian, R. (1987): Effects of soil properties on accumulation of trace elements by crops. *in* Land Application of Sludge, ed. Page, A.L. Logan, T.G. and Ryan J.A. p.5~24, Lewis Publ., Chelsea
- 13) 服部浩之, 豊田敏治, 久保井徹, 広木幹也, 藤井國博, 松坂泰明 (1983): 下水汚泥連用土壌における全炭素, 全窒素及び無機態窒素量の変化, 国立公害研報, 47, 27~35
- 14) Kiekens, L. and Cottenie, A. (1985): Principles of investigations of the mobility and plant uptake of heavy metals. *in* Chemical Methods for Assessing Bio-available Metals in Sludges and Soils, ed. by Leschber, R. Davis, R.D. and L'Hermite, P., p.32~41, Elsevier Applied Science Publishers, London
- 15) Chaney, R.L. (1988): 米国における下水汚泥の農地への有効利用およびその有害性に対する考察, 第2回下水汚泥の緑農地利用に関する国際シンポジウム講演集, 下水汚泥資源利用協議会編, 62~91
- 16) 海老原武久 (1988): 下水汚泥の農地への有効利用, 同上, 1~11
- 17) 日本土壌肥料学会 (1989): 再利用資源土壌還元影響調査に係る総合解析調査一現地調査結果の解析一, 昭和63年度環境庁請負調査結果報告書, p.107~145



## 第6章 総 括

近年、環境問題が深刻化しているが、土壌も重金属等の有害物質による汚染が進んでいる。特に、日本では、鉱山が多くその下流にある水田地帯が広範囲にわたって、Cu、Cd、Znなどの重金属で汚染されてきた歴史がある。現在、鉱山の廃鉱や各種排出規制の徹底に伴い、鉱山や精錬所を発生源とする土壌汚染の可能性は非常に少なくなったが、その反面、重金属の汚染源は多様化し、汚染はより広範囲に拡散している。いったん土壌に負荷された重金属は半永久的に土壌中に留まることから、今後も土壌中の重金属含量は増加することが予想される。中でも、農耕地の土壌の重金属の汚染源として注目されるのは、汚泥の土壌還元に伴って土壌に持ち込まれる重金属である。汚泥の土壌還元量は、その処理処分問題も絡んで、今後も増加することが予想される。

土壌中での重金属に関する研究は、土壌-植物系での挙動を中心になされ、土壌中の物質循環に重要な役割を果たしている土壌微生物とその活性への重金属の影響に関する研究は極めて少ない。重金属汚染から土壌の機能を保全していくためにも、植物の生育への影響と同時に土壌微生物活性への重金属の影響も明らかにする必要がある。

本研究は、土壌の微生物活性に及ぼす重金属の影響を、その阻害機構や土壌の許容量なども含めて明らかにすることを目的として行った。特に、今後、土壌の重金属汚染源として重要になるとと思われる汚泥の緑農地還元を念頭に置き、汚泥中の重金属の土壌微生物活性への影響を明らかにすることを最終的な目的とした。

本論文は6章から構成されており、第1章では土壌中での汚泥の分解性を支配している要因、及び汚泥中の重金属が汚泥自体の分解に及ぼす影響について検討し、第2、3、4章では、重金属添加土壌の微生物活性について、重金属の種類、土壌の種類、有機物の種類によって異なる原因を解明し、阻害機構を明らかにすることを試みた。第5章では、汚泥中の重金属が土壌微生物活性に影響を及ぼす可能性を検討した。

各章で得られた成果をまとめると次のようになる。

第1章では、汚泥中の重金属の土壌微生物活性への影響を調べるにあた



り、まず、6種類の汚泥の成分組成と土壌中での分解性との関係、さらに、土壌中の微生物数、酵素活性と分解性との関係を調べ、土壌中での汚泥の分解性を支配している要因を明らかにすることを試みた。また、汚泥を連用し、重金属が蓄積した土壌で、汚泥の分解が影響をうけるかどうかについて調べ、次の結果を得た。

①汚泥間の成分組成を比較すると、有機物量と重金属量は汚泥間で大きく異なったが、有機物組成は汚泥間で類似していた。

②土壌中での汚泥の有機態炭素の無機化率は汚泥間で異なり、無機物及びリグニン含量の高い汚泥ほど低かった。また、汚泥の有機態窒素の無機化率は、全有機物に占める粗タンパク質の割合の高い汚泥ほど高かった。汚泥間で分解性が異なるのは、特に無機物が有機物の分解を抑制するためと考えられ、分解性は無機物含量に大きく影響されると考えられた。重金属量と汚泥の分解性との関係はみられなかった。

③土壌微生物数、酵素活性と汚泥の分解性との関係では、特に初期の分解は土壌中の細菌数、プロテアーゼ活性と関係がみられた。実際に、汚泥中の有機態窒素のうち、アミノ酸態窒素の減少が大きかった。これらのことから、汚泥中の成分組成の違い、特に、無機物量の違いが、土壌の細菌数、プロテアーゼ活性に反映され、汚泥間で分解性に差が生じると考えられた。

④汚泥を連用し重金属が蓄積した土壌でも、新たに添加した汚泥の分解性は、過去に汚泥施用歴のない土壌と変わらなかった。

以上、第1章の結果からは、汚泥に含まれる重金属の汚泥の分解自体に及ぼす影響は明らかでなかった。

そこで、第2章で、6種類の重金属(Cd、Cr、Cu、Ni、Pb、Zn)を砂質土と淡色黒ボク土に $10\text{mmol kg}^{-1}$ 添加し、さらに汚泥を土壌の2%量添加して、各土壌からの $\text{CO}_2$ 発生量(土壌微生物活性の指標)、土壌微生物数を調べ、どのような重金属が微生物活性を阻害する可能性が高いのかを検討した。結果は、次の通りである。

①すべての金属が $\text{CO}_2$ 発生量を低下させたが、その影響は金属により、また土壌により異なった。土壌間では、砂質土で影響が大きく、金属間では、 $\text{Pb} < \text{Cr} < \text{Zn} < \text{Ni} < \text{Cu} < \text{Cd}$ の順に影響が大きかった。また、 $\text{CO}_2$ 発生量

への影響が大きいときほど土壤中の糸状菌数は増加した。

② 土壤中の重金属の形態を比較すると、全金属とも水溶性の量が、砂質土で淡色黒ボク土よりも多く、さらに、 $\text{CO}_2$ 発生阻害の大きい金属ほど水溶性の形態のものが多く傾向にあった。

③ 土壤細菌のコロニー形成に対する各金属の毒性を調べ、コロニー数を1/10にするときの濃度 ( $\text{ED}_{50}$  値) を比較すると、 $\text{CO}_2$ 発生量の阻害が大きい金属ほど、細菌に対する毒性が強い傾向がみられた。

④ 土壤中の水溶性金属量を細菌のコロニー形成に対する  $\text{ED}_{50}$  値で割って、その値と  $\text{CO}_2$ 発生量との関係を見ると、この値が多くなるほど  $\text{CO}_2$ 発生量が減少する傾向にあった。

以上の結果から、重金属による微生物活性の阻害度は、土壤中の水溶性金属量と土壤細菌に対するその金属固有の毒性によって決まると考えられ、細菌への影響が強いときほど、静菌作用によって休眠していた土壤中の糸状菌胞子が活性になり増加するものと推察された。

第3章では、微生物活性に対する毒性が強いCdと、汚泥中の濃度が高いZnを、5種類の土壌（川砂、砂質土、沖積土、淡色黒ボク土、黒ボク土）に種々の濃度になるように添加し、土壌中の濃度（全量及び可給態量）と  $\text{CO}_2$ 発生量及び小麦の生育との関係を調べ、微生物活性及び植物の生育からみた土壌の重金属許容量を明らかにすることを試みた。結果は次の通りである。

① 微生物活性は、どの土壌でも水溶性Cd量が  $1\text{mg kg}^{-1}$  以上になるとその対数値に比例して減少し、しかも土壌の種類によらず、ほぼ一本の直線にのることが認められた。また、これに対応するように土壌中の放線菌数が減少し、糸状菌数が増加した。

② 水溶性Znと微生物活性との関係は、Cdのときほど明瞭でなく、土壌によって異なったが、活性が低下しはじめるときの水溶性Zn濃度は、川砂以外の土壌では、おおよそ  $1\sim 10\text{mg kg}^{-1}$  であった。また、Cdの場合と同様、水溶性Znが約  $1\text{mg kg}^{-1}$  以上になると土壌中の放線菌数は減少し、細菌数は増加する傾向にあった。

③ 小麦の生育は、土壌によっては水溶性Cdが  $0.1\text{mg kg}^{-1}$  でも大きく阻害され、さらにすべての土壌で少なくとも  $1\text{mg kg}^{-1}$  では阻害がみられた。



したがって、小麦の生育の方が、微生物活性に比べて明らかにCdに対して感受性が強かった。一方、Znでは、すべての土壌で水溶性Znが  $1 \sim 10 \text{ mg kg}^{-1}$  以上で生育量が減少し、微生物活性が低下しはじめる濃度とほぼ同じであった。

このように、微生物活性と小麦の生育で、あるいはCdとZnで土壌中の重金属許容量が異なるのは、微生物と植物の重金属吸収特性の違い、CdとZnの体内許容量の違いなどに基づくものと考えられた。少なくともCdについては、微生物活性の方が植物の生育より影響を受けにくかった。

第4章では、微生物活性に対する影響が最も大きいCdについて、各種有機物の分解に及ぼす影響を調べ、Cdの有機物分解阻害機構を明らかにすることを試みた。その結果、Cdが $\text{CO}_2$ 発生量を低下させる機構として次の3点が考えられた。

①砂質土に種々の濃度でCdを添加し、さらにグルコース、セルロースを土壌の1%量添加し、土壌中のグルコース、セルロースの残存量、 $\text{CO}_2$ 発生量、土壌中の微生物数、及び土壌中のバイオマスの指標としてのATP量を調べた結果、Cd添加土壌でも、グルコース、セルロースは分解されてほぼ消失するが、 $\text{CO}_2$ 発生量は、Cd濃度が高い土壌ほどわずかながら減少すること、ATP量、糸状菌数はCd濃度が高い土壌で多い傾向にあることが認められた。このことから、Cd添加土壌で $\text{CO}_2$ 発生量が減少するのは、土壌中のバイオマス、特に糸状菌に取り込まれる炭素量が増加するためと考えられた。

②砂質土にCdを  $10 \text{ mmol kg}^{-1}$  添加し、さらに各種有機物（グルタミン酸、カゼイン、グルコース、デンプン、セルロース、リグニン、稲ワラ、稲ワラ堆肥、汚泥）を土壌の1%量添加し、各有機物の分解に及ぼすCdの影響を比較した結果、汚泥、稲ワラ、稲ワラ堆肥などCdを吸着しやすい有機物の分解が大きく阻害され、グルコース、セルロース、カゼインなどCdを吸着しにくい有機物の分解への影響は小さかった。このことから、Cdが有機物に吸着することによって、その有機物を土壌微生物による攻撃からブロックし、分解を抑えていることが考えられた。実際に、汚泥や稲ワラにCdを吸着させて土壌に添加して、分解性を調べた結果、Cdを直接土壌に添加した場合に比べて、分解の阻害度は大きかった。また、



同じくCdを吸着させた汚泥に滅菌水を添加し、土壌希釈液を接種して分解を調べた結果でも、対照汚泥（Cd無吸着）は分解したのに対して、Cd吸着汚泥はほとんど分解しなかった。

③第3章で、土壌中の水溶性Cd濃度が高くなるほど放線菌数が減少し、糸状菌数が増加することを示したが、滅菌した汚泥に滅菌水を加え、さらに土壌から単離した細菌、放線菌、糸状菌を接種し、汚泥の分解性を比較した結果、放線菌の汚泥分解能が高いことが認められ、重金属添加土壌での放線菌の減少が分解性の低下に結びつくことが示唆された。

以上のように、水溶性の形態の重金属は微生物相に影響を及ぼし、有機物に吸着された重金属はその有機物の分解を抑えると考えられた。一方、粘土等の無機物に吸着した重金属は、微生物活性に及ぼす影響は小さいと考えられる。

第5章では、汚泥中の重金属の形態、汚泥連用土壌中の重金属の形態、及び酸による重金属の溶出を調べ、汚泥中の重金属が土壌微生物活性を阻害する可能性を検討し、次の結果を得た。

①6種類の汚泥中の重金属の形態を逐次抽出法（水、 $0.05\text{M CaCl}_2$ 、 $25\text{g L}^{-1}$  酢酸、 $0.1\text{M Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 、 $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ で分解後HClで抽出）で調べた結果、汚泥によってばらついたが、水溶性の量が比較的多かったのはCuで、特に、石灰汚泥でその割合が高かった。Znは $25\text{g L}^{-1}$  酢酸で抽出される画分が大半を占め、Cr、Ni、Pbは $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ で分解後抽出される難溶性の画分が多かった。

②石灰汚泥を連用した土壌中のZnは、酢酸で抽出される画分の増加が大きく、汚泥中のZnが土壌に添加後もそのままの形態で保持されと考えられた。一方、Cuは $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出される画分が増加し、他の画分はほとんど増加しなかった。したがって、汚泥中の水溶性のCuも土壌に施用されると、土壌成分、特に有機物に吸着されることが示唆された。

③汚泥施用土壌からの酸による重金属の溶出の可能性を明らかにするため、各種汚泥、及び汚泥添加土壌から種々の濃度の酸で重金属を抽出し、抽出液のpHとZn、Cuの溶出量の関係を調べた。汚泥の種類、土壌の種類によらず、Znは抽出液のpHが約5.5以下、Cuは約4以下で溶出量が増加した。これは、汚泥施用後約10年経過した土壌でも変わらなかった。

したがって、汚泥施用後長期間経過した土壌でも、土壌pHが5.5以下に低下した場合には、Znの溶出量が増加すると考えられる。

以上の結果から、汚泥中の重金属が土壌微生物活性に影響を及ぼす可能性として、次の二点が考えられた。第一に、水溶性のCuが多い汚泥を施用した場合、水溶性Cuが土壌有機物に吸着しその分解を抑えること、第二に汚泥を施用した土壌がpH5.5以下の酸性になった場合、汚泥中の重金属が可溶化し、土壌微生物に影響を及ぼすことである。

以上、本研究の概要を述べた。これまで、重金属の土壌微生物活性に及ぼす影響に関しては、重金属が高濃度になると、微生物活性を阻害することは知られていたが、濃度と微生物活性の関係は土壌の種類によって異なるため許容量は明らかでなく、また、阻害機構も未解明の部分が多かった。本研究によって、重金属の土壌微生物活性阻害機構や微生物活性と植物生育の重金属許容量の違い等の一端が明らかになり、汚泥中の重金属が土壌微生物活性に影響を及ぼす可能性もあることが示唆された。

最後に、本研究の結果に基づいて、汚泥施用土壌の重金属の管理基準について考えてみたい。汚泥利用に伴う農耕地の重金属汚染を未然に防止するには、①汚泥中の重金属の上限濃度の基準、②汚泥を施用する土壌中の重金属上限濃度の基準、③年間の重金属施用量の基準、これらの策定・実施が必要と考えられる<sup>1)</sup>。現在、日本では、汚泥中の重金属は次の二つの方式で農地への施用が規制されている。

#### ①肥料取締法に基づく特殊肥料の濃度規制

乾物1kg当たり As 50mg、Cd 5mg、Hg 2mg以下であること。

#### ②農用地への重金属等蓄積防止に係る管理基準

表層土でのZn含有量が乾物当たり $120\text{mg kg}^{-1}$ を超えないこと。

このうち、②の土壌中のZnの管理基準は、暫定的に定められたものであるが、外国の基準に比べると厳しい基準で、他の重金属を含めて見直しが必要という意見もある<sup>1)</sup>。

そこで、本研究で得られた結果から、微生物活性や植物の生育に影響がないように基準を設定するには、どのような基準が適切か考察してみる。第5章の結果から、汚泥中の重金属が土壌微生物活性に影響を及ぼす



可能性として、水溶性のCuが多い汚泥を施用した場合、水溶性Cuが土壌有機物に吸着しその分解を抑えること、汚泥を施用した土壌のpHが5.5以下の酸性になった場合、汚泥中の重金属が可溶化し、土壌微生物に影響を及ぼすことが考えられた。微生物活性への影響がないようにするには、まず、汚泥中の水溶性の重金属量を規制する必要がある。汚泥中の水溶性の重金属の中では、ほとんどの汚泥でCuが最も多く、Znの10倍以上の汚泥もあった(表5-1、5-2)。したがって、水溶性のCu量を他の重金属と同じぐらいの量、少なくとも $10\text{mg kg}^{-1}$ 以下にする必要があると思える。

次に土壌中の濃度であるが、微生物活性が影響を受け始める時の濃度が、Cdでは水溶性の量として約 $1\text{mg kg}^{-1}$ 、Znが同じく水溶性の量として $1\sim 10\text{mg kg}^{-1}$ であった。汚泥施用土壌中の水溶性の金属量は、pHによって左右され、pH 5.5以下になるとZnが溶出してくるが、5.5以上では水溶性のZnは $1\text{mg kg}^{-1}$ 以下と少ない。したがって、汚泥施用土壌のpHを少なくとも5.5以下にならないようにすれば、微生物活性への影響は小さく抑えることができると考えられる。

それでは、土壌pHに留意さえすれば、土壌の重金属濃度がいくら高濃度になっても差し支えないのかということになるが、やはり、何らかの上限値を設定する必要があると思う。ここでは、ZnとCdについて、第3章で行った土壌への添加量と微生物活性及び小麦の生育との関係の結果に基づいて、上限値を求めてみることにする。

Znの場合、微生物活性も小麦の生育も $\text{ZnSO}_4$ の添加量が $3\text{mmol kg}^{-1}$ までは、川砂以外の土壌ではほとんど影響がなく、 $10\text{mmol kg}^{-1}$ の添加で砂質土や沖積土で影響を受け始めた(図3-6、3-11)。したがって、添加されるZn量が $3\text{mmol kg}^{-1}$ 、すなわち、 $200\text{mg kg}^{-1}$ までは、ほとんどの土壌で微生物活性も植物の生育もほとんど影響を受けないと考えられる。汚泥中のZnは大半が汚泥成分に吸着されており、無機塩の形態で土壌に添加したZnに比べて微生物活性等への影響は小さいと考えられるので、汚泥の施用に伴って土壌に持ち込まれるZn量も $200\text{mg kg}^{-1}$ までは影響を及ぼさないと推定される。また、もともと土壌中にあるZnは、抽出液のpHが2以下になってもほとんど溶出してこない難溶性のZnであり、植物の生育や微生物活性に及ぼす影響はほとんどないと考えられる。一方、汚泥中のZn、あるいは汚泥施用土壌中の汚泥由来のZnは、抽出液のpHが2以



下になると、ほぼ100%が溶出される(図5-1、図5-3)。したがって、汚泥施用土壌から、抽出液のpHが2以下になるようにして抽出を行うと汚泥由来のZnのみが選択的に溶出されてくると考えられる。従来から、酸可溶性の重金属量の測定には、土壌にその5倍量の0.1M HClを添加し抽出する方法が用いられているが<sup>2)</sup>、この方法では、特に、石灰汚泥施用土壌で抽出液のpHが十分に酸性にならず、汚泥由来のZnをすべて抽出できない。土壌の5倍量の1M HClを用いれば、石灰汚泥を多量に施用した淡色黒ボク土でも抽出液のpHは2以下となり、汚泥由来のZnは大部分が抽出される。以上のことから、汚泥施用土壌中のZn含量を、土壌の5倍量の1M HClを添加して抽出されるZn量として、 $200\text{mg kg}^{-1}$ 以下に抑えれば、微生物活性も植物の生育もほとんど影響がないと考えられる。この値は、これまでの日本の基準と比べると、かなり緩やかになる。一方、諸外国の汚泥施用土壌のZn許容量は、およそ  $150\sim 300\text{mg kg}^{-1}$  となっている<sup>3)</sup><sup>4)</sup>。日本の土壌中のZnの自然含有量の平均値は $86\text{mg kg}^{-1}$ であり<sup>5)</sup>、これに $200\text{mg kg}^{-1}$ 付加されても $300\text{mg kg}^{-1}$ 以下であり、諸外国の基準と似た値となる。

一方、Cdは、微生物活性よりも小麦の生育の方が、より少量の添加で影響を受け、砂質土や沖積土では $0.1\text{mmol kg}^{-1}$ 、すなわち約 $10\text{mg kg}^{-1}$ の添加でも影響を受けた(図3-9)。したがって、Cdの許容量は $10\text{mg kg}^{-1}$ 以下となる。また、Cdは、植物の生育への影響もさることながら、植物体内の濃度も、それを摂取する人間に影響を及ぼすことから問題となり、米の基準値は $1\text{mg kg}^{-1}$ 以下と定められている。本研究では、小麦中のCd濃度の測定は行わなかったが、仮に生育阻害を受け始めるときの土壌への添加量を $10\text{mg kg}^{-1}$ 、茎葉部の体内濃度を $20\text{mg kg}^{-1}$ とし<sup>6)</sup>、土壌中のCd濃度と植物体内のCd濃度が比例するとすると、植物体内の濃度が $1\text{mg kg}^{-1}$ になるときの土壌添加量は $0.5\text{mg kg}^{-1}$ となる。したがって、Znと同じように考えて、土壌中のCd量を1M HClで抽出される量として、 $0.5\text{mg kg}^{-1}$ 以下になるようにすれば、植物の生育や土壌微生物活性への影響も小さく、また植物体内の濃度も $1\text{mg kg}^{-1}$ 以下に抑えることができると考えられる。汚泥中のZn濃度は平均で $960\text{mg kg}^{-1}$ に対してCdの濃度は $2.25\text{mg kg}^{-1}$ で、ZnはCdの約400倍の濃度となっている<sup>7)</sup>。今回求めた土壌の許容量もZn  $200\text{mg kg}^{-1}$ に対してCd  $0.5\text{mg kg}^{-1}$ とちょうど400倍の差とな

っている。また、日本の土壌の自然含有量の平均値は $0.44 \text{ mg kg}^{-1}$ （最大で $2.53$ ）であり<sup>5)</sup>、これに $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$ 付加されても $1 \text{ mg kg}^{-1}$ 以下（最大でも $3.03$ ）となり、諸外国のCd許容量<sup>3) 4)</sup>  $1.6 \sim 3.0 \text{ mg kg}^{-1}$ に比べて大差ない値となる。

以上のことをまとめて、汚泥の施用に伴う重金属汚染を防止するための管理基準として、次の4点を提案する。

- ① 汚泥中の水溶性のCu量は乾物当たり  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ 以下とする。
- ② 汚泥施用土壌のpHを5.5以下にならないようにする。
- ③ 汚泥施用土壌中のZn含量は、土壌の5倍量の1M HClで抽出される量として、 $200 \text{ mg kg}^{-1}$ を超えないようにする。
- ④ 汚泥施用土壌中のCd含量は、土壌の5倍量の1M HClで抽出される量として、 $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$ を超えないようにする。

# 参考文献

- 1) 日本土壤肥料学会(1993): 平成4年度環境庁請負調査結果報告書,  
再利用資源土壌還元調査に係る総合解析調査—参考文献調査—,  
p.44~64
- 2) 土壌標準分析・測定法委員会編(1986): 亜鉛, 土壌標準分析・測定  
法, p.191~199, 博友社, 東京
- 3) LeFevre, B. (1988): 下水汚泥の農用地利用のためのガイドライン,  
第2回下水汚泥の緑農地利用に関する国際シンポジウム講演集, p.  
117~127, 下水汚泥資源利用協議会
- 4) Page, A.L., Chang, A.C. and Adriano, D.C. (1988): 都市下水汚泥の  
緑農地利用—微量元素についてのガイドライン—, 同上, p.145~  
171
- 5) Iimura, K. (1981): Background contents of heavy metals in  
Japanese soils. in Heavy metal pollution in soils of Japan,  
ed. Kitagishi, K. and Yamane, I. p.21~26, Japan Scientific  
Societies Press, Tokyo
- 6) 茅野充男, 斎藤寛(編)(1988): 重金属と生物, p.81~142, 博友  
社, 東京
- 7) 山添文雄(1986): 有機性廃棄物の農業利用, 日本土壤肥料学雑誌,  
57, 96~104



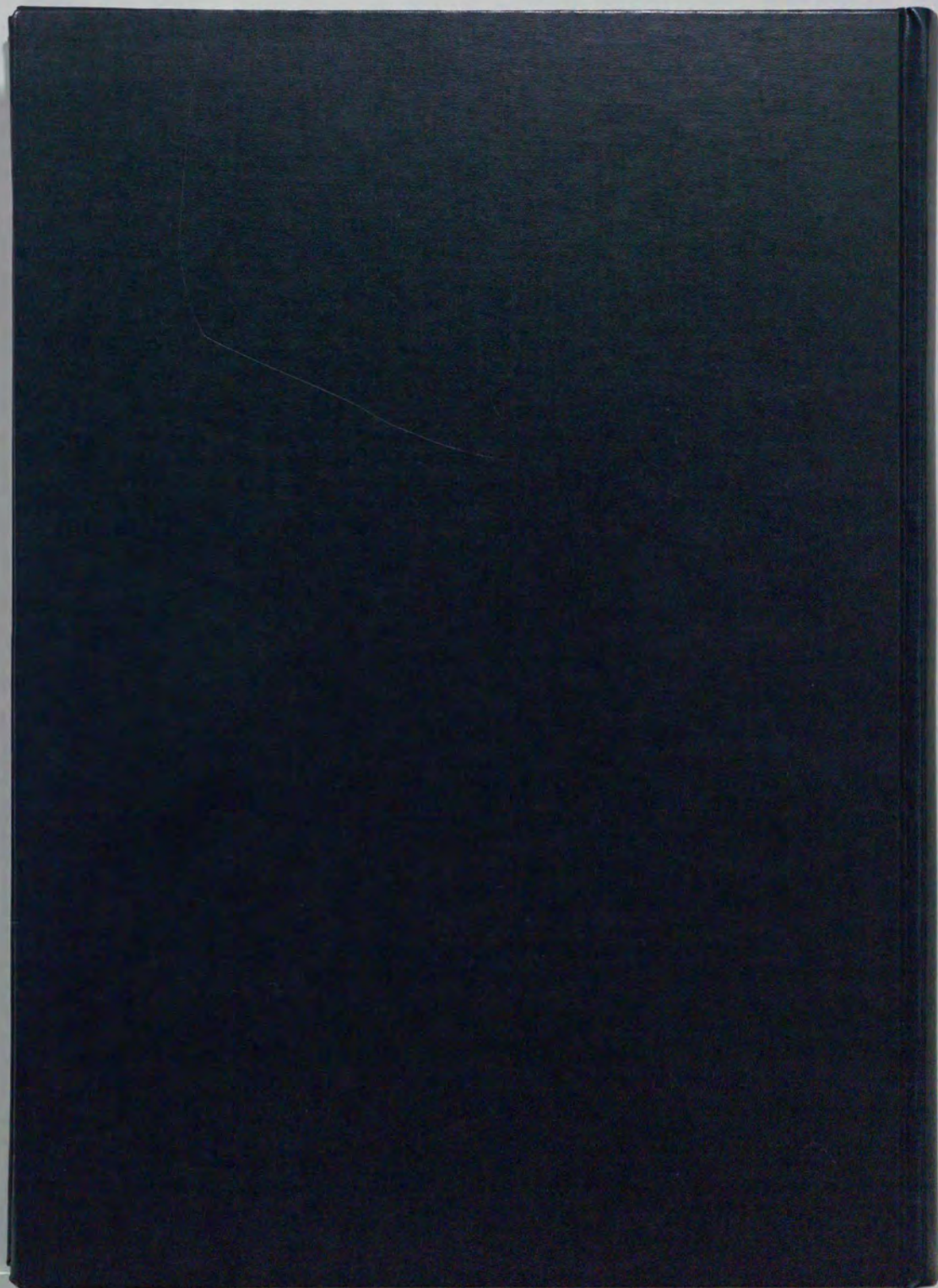
## 謝 辞

本論文の作成にあたり、東京大学教授 茅野充男博士には、御多忙の中終始懇切なる御指導を賜り、さらに、本論文の御校閲を賜りました。ここに深甚なる謝意を表します。

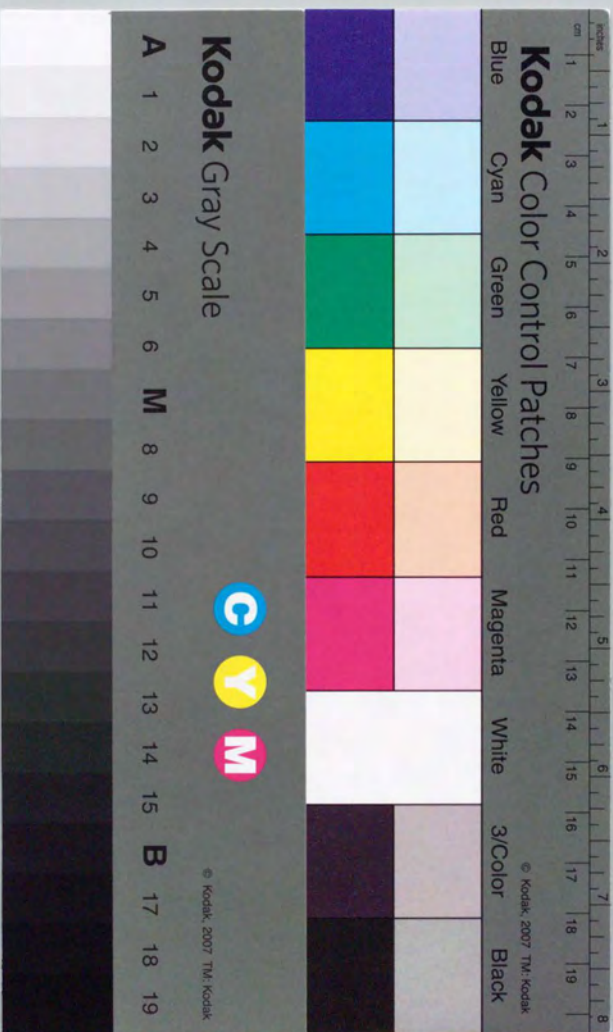
また、本論文作成の取り組みにあたって、御助言を頂きました同教授 上野川修一博士に感謝の意を表します。

本研究は、国立環境研究所水圏環境部において実施されたもので、本論文の作成にあたり、御理解と御配慮を頂きました 同部長 渡辺正孝博士 並びに 同部土壌環境研究室長 高松武次郎博士に心より感謝致します。

本研究の実施にあたり、土壌有機物の分析の御指導、御協力を頂きました土壌環境研究室 向井 哲 主任研究員、土壌微生物の測定御指導を頂きました前土壌環境研究室長 藤井國博博士（現在 農水省東北農業試験場畑地利用部長）、重金属等の分析の御指導を頂きました前土壌環境研究室主任研究員 久保井 徹 博士（現在 静岡大学助教授）、本論文の作成にあたり御配慮頂きました水環境質研究室長 矢木修身博士、実験やデーター整理に御協力下さった長谷仁子さんをはじめ、御協力頂いた方々に心から謝意を表します。







# Kodak Color Control Patches

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black

Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19