

土壤中有害物質等の微生物叢におよぼす影響

遠藤立一 佐々木裕子 古井戸良雄

小川益雄 久保倉洋子
(東京農工大学) (東京農工大学)

1 はじめに

土壤は環境汚染質の主要な集積場所の一つであるとともに、また、生態学的生産活動の原点でもあり、汚染質に対しても強い浄化作用を有している。すなわち、土壤はその中に多数の微生物を棲息させ安定した生態系を構築し、汚染質の分解・浄化作用を通じて、自然界における物質循環に極めて重要な役割を果たしているが、もし、このような土壤生態系の構造に、環境汚染にもとづく何らかの影響が現われるとなつたら、その地域の環境状態はかなり危険な状態にあり、生態系の機能におよぼす影響にもかなり深刻な事態が予測される。

私たちはすでに、都市生態系におよぼす環境汚染質の影響に関する研究の第一段階として、土壤中における微生物の存在状態と汚染状況（特に重金属と窒素酸化物）の関連性を検討した結果、都市の幹線道路に面した交通量の多い場所では銅、鉛、亜鉛などの汚染度がかなり高く、かつ土壤微生物の重要な構成員の一つである放線菌に著明な減少が認められ、汚染の影響が微生物の生存様式を通じて土壤生態系のレベルにおよんでいる可能性のあることを指摘した。

そこで本年度は本研究の第2段階として、本現象発現の機序、特に大気汚染との関連の有無、特に効いている要因・物質の解明を目的として、次の項目について調査・研究を行なった。
①汚染度と微生物存在様式の関連に対する再検討：第一段階の調査からすでに3ヶ年を経過し、その間排出ガスに対する規制の強化や世論の高まり等条件が変わったことから、もう一度現状を把握しておくことの必要があるものと考えられる。
②自然土壤を汚染地区へ客土した場合の含有化学物質量と微生物叢の変化の解析：前報において、微生物の存在状態に異常の認められた地域に、自然の微生物叢を持った土壤を客土する

ことによって、放線菌の減少が、人工的影響の少ない自然状態下では存在しない何らかの要因によるものかをトータルとして解明するため。
③自然土壤を自動車排出ガスに曝露した場合における汚染と微生物存在様式の変化の解析：微生物叢変化の原因物質をしづる手段として、前報の結果から、最も関連が深いと考えられていた自動車排出ガスに直接自然土壤を曝露した際の影響を観察するため。

2 調査・研究方法

(1) 汚染度と微生物の存在様式との関連に対する再検討
ア 調査用土壤の採取場所（および土壤の性状）：表1の通りである。

イ 土壤の成分および汚染質の分析方法

(イ) pH、水分は農芸化学実験書によって²⁾、また総窒素は土壤養分分析法³⁾によって測定した。

(ウ) 細菌数：アルブミン寒天培地による希釀平板法により測定した⁴⁾。

(エ) 貫金属：浅見⁵⁾の方法に従って、乾燥土壤 5 g に 6-N 塩酸 2.0 ml を加え、100℃に加熱しながら 1 時間浸出した後、No.5 B 沖紙で沖過し、沖液について原子吸光（Varian Techtron）により銅・鉛・亜鉛・クロム・ニッケル・カドミウムの 6 種類を測定した。

(2) 自然土壤を汚染地区へ客土した場合の土壤成分・汚染質・微生物叢の変化

これまでの経験から自然状態下の細菌叢を保有していると思われる土壤（農工大見本林）を 2 mm の篩で篩別した後、内径 7.5 cm、高さ 4.7 cm の陶製パイプに 2.2 kg ずつ充填した後、前報で放線菌が少なかった自然教育園（3ヶ所に 3 本ずつ計 9 本）、日比谷公園（3ヶ所に 2 本ずつ計 6 本）、清澄庭園（3ヶ所に 2 本ずつ計 6 本）、

表1 調査用土壤採取場所および土壤の性状

検体名	採材地				土壤の性状		
	採材場所名	用地の種類	道路名	道路からの距離	種類	pH(水)	水分含量%
自然教育園	港区 国立自然教育園	雑木林	目黒通り	100 m	沖積層	5.0	54.5
		"	"	50	"	6.5	45.3
		"	"	10	"	5.6	43.4
日比谷公園	千代田区 都立日比谷公園	梅林	内堀通り	100	沖積層	5.7	30.4
		雑木林	"	50	"	5.9	34.5
		植栽	"	5	"	7.2	34.1
清澄庭園	江東区 都立清澄庭園	雑木林	清澄通り	100	沖積層	5.6	20.5
		"	"	50	"	5.7	22.8
		"	"	5	"	5.2	21.2
世田谷	世田谷区 船橋 芦花公園 仙川	畠	環状8号	5	火山灰	4.8	33.4
		雑木林	"	5	"	4.7	30.9
		"	旧甲州街道	5	"	6.7	33.1
府中市	府中市	林1	甲州街道	1400	火山灰	5.3	40.6
		2	"	1200	"	5.9	33.9
		櫟並木	"	5	"	5.4	36.8
千葉県	千葉県 中部地区	松林1	県道	1000	火山灰	4.3	37.3
		2	"	50	"	4.5	36.9
		3	"	5	"	4.5	36.7

および甲州街道と府中櫟並木の交叉点(2本)に、また対照として農工大学見本林(3本)に5ヶ月間埋設した後、表層土を採取して、(1)と同一の項目について同一の方法により測定した。

(3) 自然土壤に対する自動車排出ガス曝露実験

農工大学見本林の土壤を2mmの篩で篩別した後、50gと100gを図1に示す方法によりガラス板上に乗せ表2および図2に示した実験条件で2時間半自動車排出ガスに曝露した。また、同一の条件で空気のみに曝露した系を対照とした。測定項目(1)の他に特殊細菌数⁴⁾(アノモニア酸化菌・亜硝酸酸化菌および脱窒菌)を追加した。

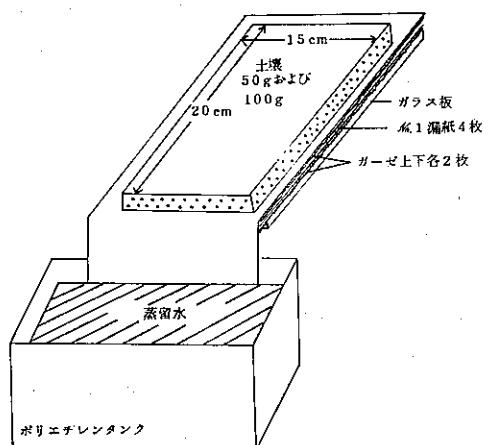


図1 自動車排出ガス曝露用装置(1)

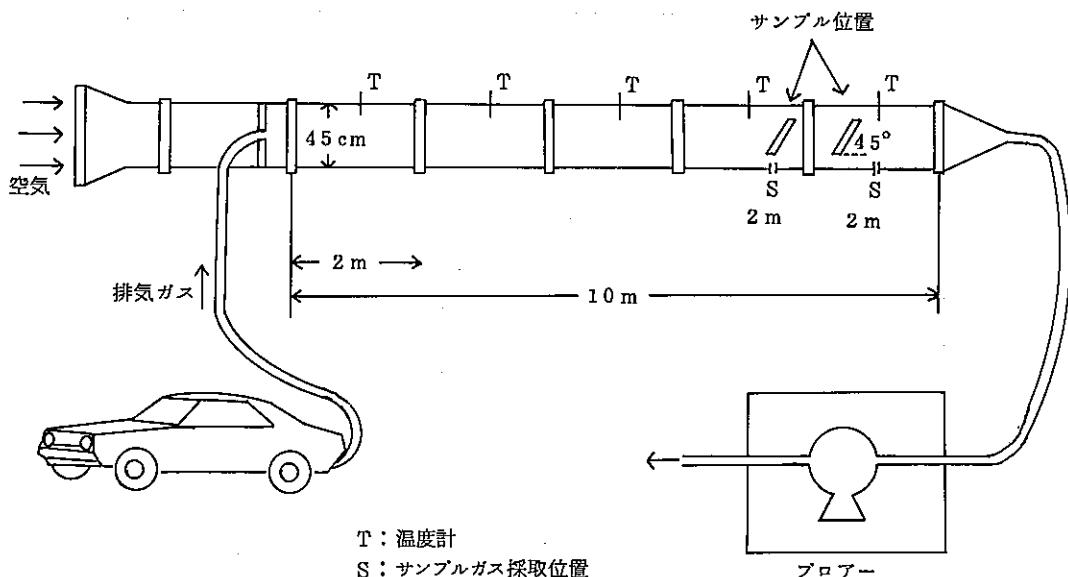


図2 自動車排出ガス曝露用装置(2)

表2 自動車排出ガス曝露実験の実施条件

大 気 圧	7 6 3 mmHg
室 溫	2 4 °C
湿 度	4 1 ~ 4 6 %
外 気 温	8.3 ~ 8.6 °C
実 験 車	トヨタマークII
" 年 代	4 8 年
" 型 式	TT100
" 総排気量	1.5 5 l
" 走行 km	9 5 5 0 km
速 度	6 0 km
実 験 エンジン rpm	2 3 2 0 rpm
験 プースト圧	4 0 0 mmHg
条 トンネル断面積	0.1 5 9 m ²
件 風 量	5.8 1 6 m ³ /min
風 速	0.1 6 m/s
トунネル内温度	3 0 °C

3 実験・調査成績および考察

(1) 汚染度と微生物の存在様式の関連に対する再検討
土壤微生物叢に占める放線菌の比率は前報¹⁾同様に今回も一般に金属量の多いところで低かったが、その姿は

前報ほど著明ではなかった。これは恐らく、自動車等からの排出ガスの影響によって減少したと思われる(曝露実験の成績から考えて)放線菌の比率が、その後の排出ガスに対する規制の強化によって汚染が緩和されたために、徐々に修復されたためではないかと考えられる。重金属のうち、銅・鉛・亜鉛の含有量は一般に都内の自然教育園、日比谷公園、清澄庭園で高かった。また、前報にくらべると一般に金属の測定値が高くなっているが、これは前報の塩酸抽出法にくらべ、今回は浅見らの熱塩酸抽出法を用いたためと考えられる。たとえば亜鉛を例にとると、従来の1-N塩酸抽出法にくらべ、今回用いた熱塩酸抽出法では1~5倍高い値が得られている⁵⁾⁶⁾。

放線菌の比率と窒素化合物量との間には特別の相関関係はみられなかった。

(2) 自然土壤を汚染地区へ客土した場合の土壤成分・汚染質・微生物叢の変化

自然教育園と日比谷公園への客土土壤では放線菌の比率が対照にくらべ約1/2に減少しており、(1)の成績と一致する傾向を示した。清澄庭園ではほとんど変化がみられなかつたが、今回は実験の都合で5ヶ月足らずの客土期間しか得られなかつたので、更に客土期間を延長して観察する必要があるものと考えられる。硝酸態窒素は都内公園への客土土壤でかなり増加しているものがみられ、しかもそれらは周辺の都市土壤にくらべると著しく

表 3 自動車排出ガス曝露土壤の細菌数と細菌叢

曝露後の 保存条件	検体名	1) 一般細菌数	細菌数 2)						細菌叢						供試 菌株数		
			亜硝酸 酸化菌	アンモニア 酸化菌	脱窒菌			グラム陽性菌			グラム陰性菌			その他			
					放線菌	Baci	無芽桿球菌	PS	A1	Aci	PS	A1	Aci	PS	A1	Aci	
20°C・1日	非曝露土壤	1.1×10 ⁷	—	—	—	5.6	2.0	4	0	0	4	8	4	8	4	25	
	空気曝露土壤	1 1.2×10 ⁷	—	—	—	5.6	2.8	4	0	0	0	0	0	0	0	12	25
	排出ガス曝露土壤	2 1.2×10 ⁷	—	—	—	5.2	2.4	0	0	0	8	0	8	0	8	8	25
	排出ガス曝露土壤	1 4.0×10 ⁶	—	—	—	3.6	5.6	8	0	0	0	0	0	0	0	0	25
20°C・7日	非曝露土壤	2 3.5×10 ⁶	—	—	—	4.0	3.2	20	0	0	4	0	4	0	4	0	25
	空気曝露土壤	1 1.7×10 ⁷	2.8×10 ³	2.8×10 ³	7.4×10 ⁵	5.0	5.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	排出ガス曝露土壤	1 1.8×10 ⁷	9.5×10 ³	9.8×10 ³	1.6×10 ⁶	5.0	3.5	5	0	0	0	0	0	5	5	5	20
	排出ガス曝露土壤	2 4.4×10 ⁷	3.0×10 ³	2.3×10 ³	4.6×10 ⁵	5.5	1.0	5	0	1.5	0	0	0	5	10	10	20
20°C・14日	非曝露土壤	2 2.2×10 ⁷	6.2×10 ³	2.4×10 ³	3.0×10 ⁴	2.0	2.3	10	0	2.7	3	1.0	0	7	7	30	
	空気曝露土壤	1 1.4×10 ⁷	—	—	3.4×10 ³	3.0	4.0	0	0	20	0	0	0	0	10	10	
	排出ガス曝露土壤	2 1.0×10 ⁷	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	排出ガス曝露土壤	1 2.7×10 ⁷	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

1) 1: 土壌 5 g 使用, 2: 土壌 10 g 使用
無芽桿: 無芽胞桿菌, PS: Pseuclomonas, Aℓ: Alcaligenes, Aci: Acinetobacter
2) 乾土 1 g 当り 放線: 放線菌, Baci: Bacillus

含有量が多くなっていた。この現象発現の理由として、自動車排出ガス中のNO_xが影響している可能性も考えられ、土壤生態系の構造や機能 — たとえば、都市土壤では、自然土壤に本来的に備わっているガスの吸着能に必要な生物的・理化学的構造・機能を失なっている可能性や、逆にNO_x蓄積防除に対する特別の機能を持った構造が構築されている可能性などを含めて — と関連して早急に検討して、その本体を明らかにしておく必要があるものと考える。

その他の項目にはほとんど変化はみとめられなかった。

(3) 自然土壤に対する自動車排出ガス曝露実験

10倍希釈ガスによるわずか2時間半の感作にもかかわらず、感作後時間が経過するにつれて放線菌の著明な減少が認められた(表3)。脱窒菌にも減少の傾向がみられた。また、多少のばらつきはみられるものの、硝酸態窒素とアンモニア態窒素の増加がみられた。

以上、土壤のように安定した系に棲息する微生物の存在様式にも、自動車排出ガスによって擾乱されることが実験的に明らかになった。そして、これらの成績は(1)、(2)のフィールドの成績ともある程度一致していた。なお、本現象発現の原因については、今回の実験では明らかにできなかつたが、曝露実験や客土実験で得られた成績の範囲内では、金属は重要な役割を果たしていないようであり、また、今回は調べられなかつたその他の金属についても、わずか2時間程度の曝露であったことと排出ガス中の成分を考え合わせると、金属が原因となっている可能性は非常に小さいものと考えられる。このような実験をさらに長期にわたって観察することは、いったん破壊された土壤生態系の構造が、その機能にどのような障害をもたらすか、あるいは従前(正常)の機能を保持するための構造の再構築をどのような過程をへておこなう

かなどについても究明できる可能性を秘めており、今後の重要な検討課題と考えられる。

4まとめ

以上の調査・研究成績から、土壤中の放線菌の低下現象には、少なくとも、自動車の排出ガスの影響が関与していることはほぼ確実と思われる。今後はこの種の現象が都市の生態系の機能と構造にどのような影響をもたらすかについて、長期にわたって計画的に解析をおこなうとともに、本現象の発現に関与している原因をさらに明確にして、その対策樹立に方向づけを行なうことが必要である。

最後に本調査・研究に御協力いただいた東京都公害研究所大気部の阿部・飯田両研究員、東京農工大学の瀬戸昌之助手、本間慎教授ならびに、国立自然教育園、日比谷公園、清澄庭園、大国魂神社、東京農工大学見本林の関係者に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 小川ら：都市生態系研究会報告 №.1 (1974)
- 2) 京都大学農学部農芸化学教室編：農芸化学実験書、第1巻、産業図書 (1961)
- 3) 土壤養分測定法委員会編：土壤養分分析法、養賢堂、(1975)
- 4) 土壤微生物研究会編：土壤微生物実験法、養賢堂、(1975)
- 5) 浅見ら：日本土壤肥料科学雑誌、48, 335-336 (1977)
- 6) 農林省北陸農業試験場土壤肥料第2研究室：農林水産物の生育環境保全に関する研究、P. 51 (1970)