

## 土壌動物を使った土壌汚染に関する生態リスク評価

Ecological risk assessment of soil pollution using soil animals.

Development of the toxicity scaling method for evaluation of specific risk in mixed contaminated soils.

横浜国立大学環境科学研究センター

金子信博

はじめに

現代の日本の土壌は重金属や農薬などのさまざまな人工汚染物質に、すでにさまざまなレベルで汚染されていて、汚染のない土壌を見つけるほうがむしろ難しいかもしれない。しかもほとんどの土壌は1種類の汚染物質が含まれているだけでなく、複数の汚染物質が含まれている。ほとんどの土壌は汚染物質に薄く汚染されているだけかもしれない。しかし、このような土壌の薄く広い汚染で、生物の絶滅確率が高まったり、生態系の機能に障害が現れているかどうかについては、知られていない。汚染の程度が軽微であると、生態系への影響を感知することが難しい。土壌には多様な微生物と動物が生息しているが、汚染物質による土壌生物群集の変化については実験室における毒性試験があるものの、野外におけるリスク推定は研究例が少ない。生態リスクの評価と対策にはそれぞれの汚染物質を特定し、その影響を明かにしたうえで、効用を踏まえて対策をたてる必要があるだろう。しかし、それぞれの汚染物質の濃度を求めることは、特定物質が高濃度に期待される場所以外のところでは、無意味である。また、複合汚染をうけている土壌では個々の物質濃度がわかっても、実際の影響を積み上げて評価していくことは、相互作用を予測する必要があるので、汚染物質相互間に相加反応が想定できなければ困難である。

土壌動物は土壌動物との相互作用を通して、有機物の分解や土壌構造の改変を行っており、自然土壌の機能の維持に重要である (Lavelle *et al.*, 1998)。線虫は植物や昆虫に寄生するものの他に、土壌、淡水・海水の底質に広く生息している。寄生性でない線虫を自由生活性線虫と呼び、温帯林土壌では60種前後が生息していて、土壌の環境変化を速やかに反映する生物だと考えられている。トピムシは土壌に多く生息する昆虫で、羽を持たず、成虫となっても脱皮を繰り返すといった原始的な特徴を持っている。土壌中の微生物、植物、藻類、腐植、土壌などを食べ、土壌微生物に対して選択的な食性を持っていることが知られている (Kaneko *et al.*, 1994)。本研究に用いた *Folsomia candida* は単為生殖で、飼育が容易であり、毒性試験のデータが多いので試験対象として小型節足動物を代表する種として最適である。

本研究では土壌動物を対象に、他の物質との相互作用が少ないと考えられる銅を調査対象の土壌に加えることによって、用量-反応曲線を求め、現実の土壌がもつ環境リスクを銅の用量で求めた  $EC_{50}$  をものさしとする方法を開発した。

## 1. 方法

### 1-1. 線虫群集の反応

長野県南佐久郡南牧村の筑波大学八ヶ岳演習林カラマツ林表層土壌(湿性黒色土(B<sub>D-E</sub>))を表層から5cmの範囲で1999年10月9日に採取した。土壌を研究室に持ち帰り、10月15日2mmで篩別し、10月18日に乾重10g(湿重22.1g)ずつ秤量して50ccのシール容器(Polystyrene)計53個に入れた。篩の効果を避けるため1週間22.5度にて前培養した。前培養後、土壌試料に100、1000、10000mg kg<sup>-1</sup>の濃度となるように塩化銅(2水和物)を2ccの脱イオン水を用いて添加し、全暗で2週間培養した。培養後、Cobbの篩い法にて線虫を採取(翌日まで抽出)した。抽出された線虫を用いて、MIを計算した。科の同定には、穴田(1999)の検索を用いた。

### 1-2. トビムシを用いた、土壌の潜在的汚染リスクの推定

島根県中部の島根大学生物資源科学部附属三瓶演習林(標高400m)のスギ人工林(1953年植栽)で1999年10月31日に土壌を採取した。土壌はスギの樹幹周り20cmの範囲の表層5cmのもの(樹幹流圏土壌)と、樹幹から60cm以上離れた表層土壌(林内雨圏度助)の2点である。土壌を研究室に持ち帰ったのち、2mmの篩いで細土を分別し、2度冷凍-解凍を繰り返して、土壌中の無脊椎動物を除去した。含水率を測定後、通風乾燥機を用いて40度で風乾した。

容積50mlのガラス瓶に風乾土5gに対して水分が3mlとなるように調整して、5段階の銅レベルとなるように塩化銅2水和物を加えた。銅の濃度は、0、10、31.6、100、316mg kg<sup>-1</sup>soilとした。土壌の化学性についてはすでにKaneko & Kofuji(in prep.)、小藤(1997)が測定している。さらに、土壌微生物バイオマスと小型節足動物(トビムシ、土壌ダニ類)についてもKaneko & Kofuji(in prep.)にて報告した。これらのデータをまとめたものを表1に示す。

表1. 島根大学三瓶演習林の2つの土壌の化学性と生物性

	樹幹流圏土壌	林内雨圏土壌
土壌 pH(H <sub>2</sub> O) <sup>a</sup>	4.22 ~ 4.85	5.25 ~ 5.28
微生物バイオマス炭素量(mg C g <sup>-1</sup> dry soil) <sup>a</sup>	4.7	7.6 ~ 11.2
全炭素 (%) <sup>b</sup>	19.4 ~ 21.2	17.1 ~ 17.3
全窒素 (%) <sup>b</sup>	1.27 ~ 1.30	1.03 ~ 1.06
置換態カルシウム (meq 100g <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	7.42 ~ 8.66	10.86 ~ 10.90
置換態マグネシウム (meq 100g <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	0.10 ~ 0.16	0.51 ~ 0.54
土壌小型節足動物の密度 (m <sup>-2</sup> ) <sup>a</sup>	102775	49550

a: Kaneko & Kofuji (in prep.), b: and Kofuji (1997).

トビムシの毒性試験は、Wiles & Krogh (1998)の方法に準じた。恒温器で22.5度で飼育されている *Folsomia candida* (島根大学構内圃場で1992年に採集して累代飼育したもの)

を実験動物に用いた。卵から 19 日目の個体の体長をビデオ顕微鏡 (Keyence VH-6300) を用いて測定し、各処理に 5 個体ずつ入れ、ポリエチレン製の蓋で瓶を密閉して、22.5 度の恒温器 (全暗) で、14 日間飼育した。飼育終了時の体長、死亡率を測定した。

## 2. 結果

### 2-1. 線虫群集の変化

銅の用量に対する MI の変化を図 2 に示す。線虫のなかでの生活史の特性を攪乱対応型 (r 型) から安定型 (K 型) まで分け、点数化して、群集の平均値をもとめたものが MI 指数である (Bongers, 1990)。コントロールでは MI が 3.1 となり、10mg の添加では影響が見られなかったが、それ以上の濃度で MI が低下し、10000mg では線虫が検出されなかった。

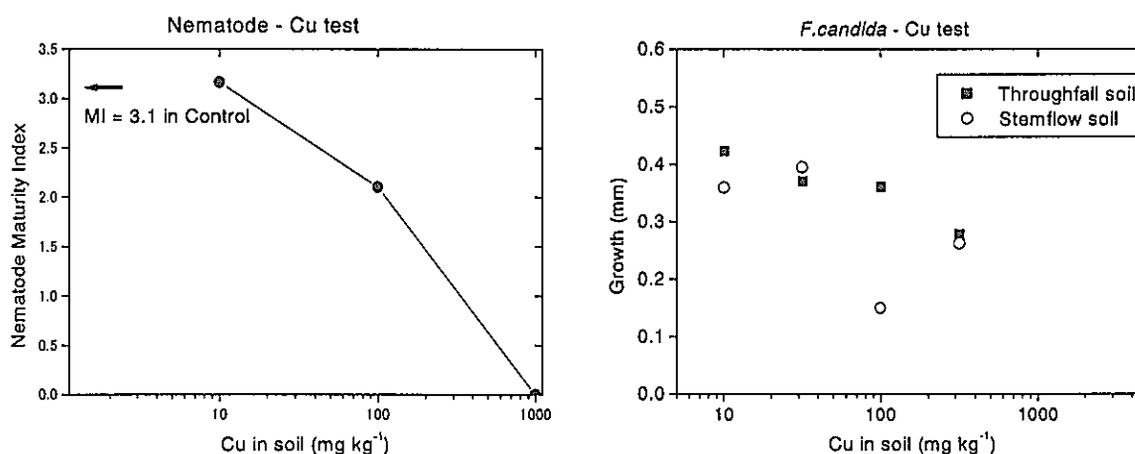


図 1. 銅添加に対する線虫の MI の変化。 図 2 2つの土壌への銅の添加がトビムシの成長に与える影響

### 2-1. トビムシの銅に対する用量 - 反応関係。

トビムシの成長に対する銅の影響を図 3 に示す。コントロールでの成長量は Throughfall soil で 0.41mm, Stemflow soil で 0.45mm であった。べき乗式 (Tanaka & Nakanishi, 1998) のあてはめ結果は、表 2 のようになった。EC<sub>50</sub> 値は樹幹流圏土壌で 235 mg kg<sup>-1</sup>, 林内雨圏土壌で 700 mg kg<sup>-1</sup> となった。

表 2. べき乗式のあてはめによって求めたパラメータ値

	Stemflow soil	Throughfall soil
$\alpha$	4.426	3.489
$\beta$	1.112	3.395
$\gamma$	0.453	0.413
EC <sub>50</sub> (Cu mg kg <sup>-1</sup> )	235	700

### 3. 考察

自由生活性線虫の群集構造が銅のような重金属汚染をよく反映することがすでに知られている(Bongers, 1990; Bongers & Bongers, 1998). 今回のデータは, 極端な銅汚染に対して従来の結果と同様に MI 指数が汚染をよく反映していた. 線虫が2週間という短い実験期間で汚染を反映することが確かめられた. この方法は, 反応の早さ, および水田土壌でも適用可能な利点があり, さらに個別試験では見つけられない波及効果まで評価することができる利点がある. しかしこの方法では MI 値の減少を生態リスクとして定量的に評価することができない.

一般に多数の汚染物質がひとつの土壌から検出されるので, 土壌汚染は複合汚染である. 複合汚染が生物に与える影響を明らかにするには, それぞれの汚染物質を群集を構成する生物すべてに対して毒性試験をする必要があるが, これは現実的ではない. 本研究では, 銅をモデル物質として土壌に添加することにより, 対象とする土壌が銅の毒性に換算してどの程度汚染されているかを, トビムシの成長と線虫群集の反応を使って表現しようとした. 土壌の重金属の複合影響について, 重金属だけでなく, 炭化水素, 農薬などの汚染物質が混入している場合にはどうすればよいのだろうか? モデル物質である銅を使って銅の値に換算した毒性を示すことは, Specific risk の表現に有効であろう. 今回使った銅は, Cd や Zn に対してミミズで相互作用がないことが確かめられている. 土壌の pH が下がるとプロトンと陽イオンとの置換が生じるので, 一般に重金属の生物利用可能性が高まると考えられる. 土壌 pH の低下は土壌微生物バイオマスと落葉分解率の低下をもたらし, イオン組成の変化をひきおこしていた. 樹幹流圏土壌でのアルミニウムイオンなどは測定されていないが, 乾性降水物も含めて毒性物質の濃度上昇が示唆される. 銅を用いたこの土壌の生態リスクの上昇分は  $465\text{mg kg}^{-1}$  であると推定できた. この方法を Toxicant Scaling と呼ぶことにしたい. これは, 実際にリスクが現れるまでにどれだけの距離があるかを示す.

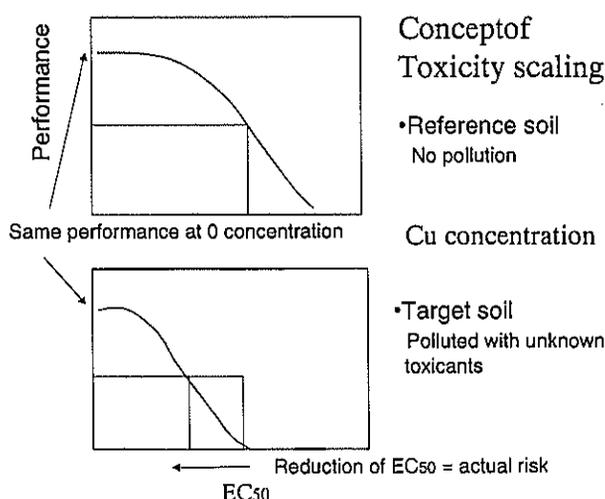


図3 Toxicity scaling の考え方