



卒業論文テーマ

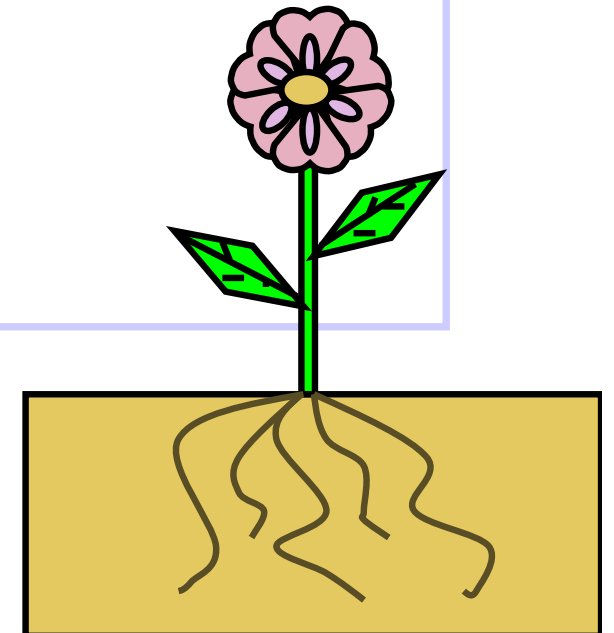
ファイトレメディエーションにおける
有機物添加およびミミズの効果

長澤 奈那

平野 有希子

ファイトレメディエーションとは

植物やその根圏に共生的に存在する微生物群によって土壌中の汚染物質（有機物・無機物）を除去したり、分解することによって土壌汚染を浄化するプロセス

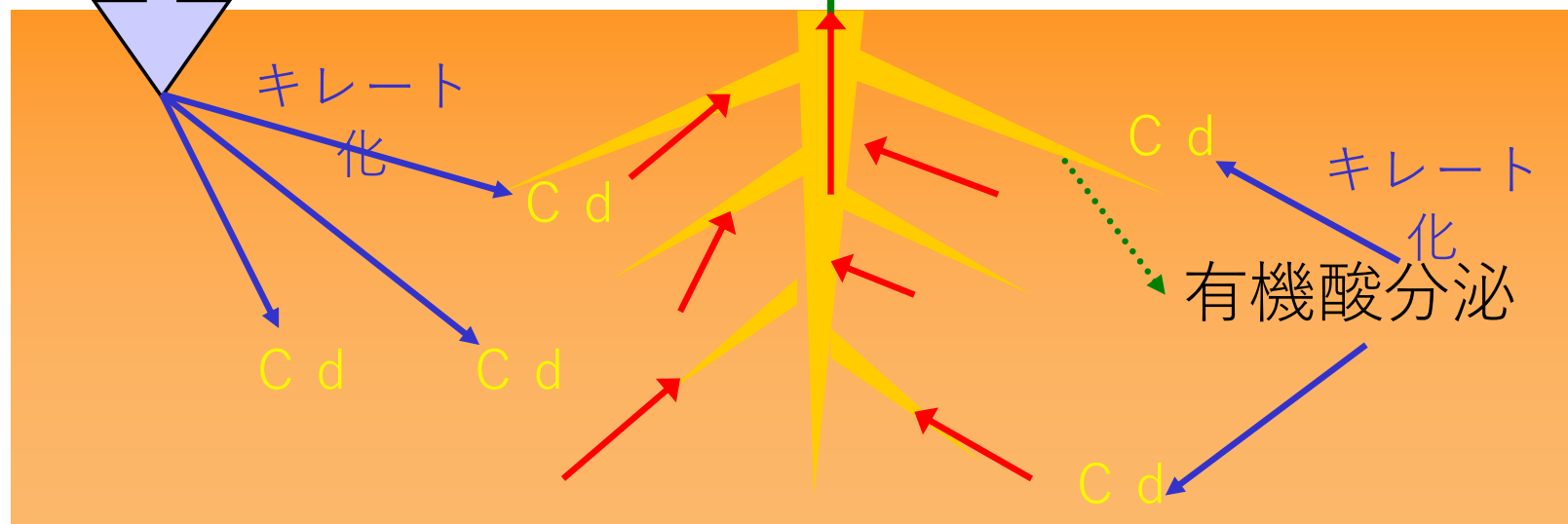


カラシナによるファイトレメディエーション

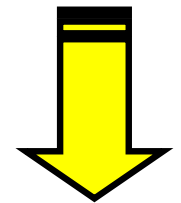
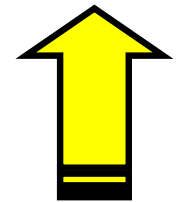
ファイトエクストラク
ション

重金属を植物体内
に吸収・蓄積

Cd可溶化
資材



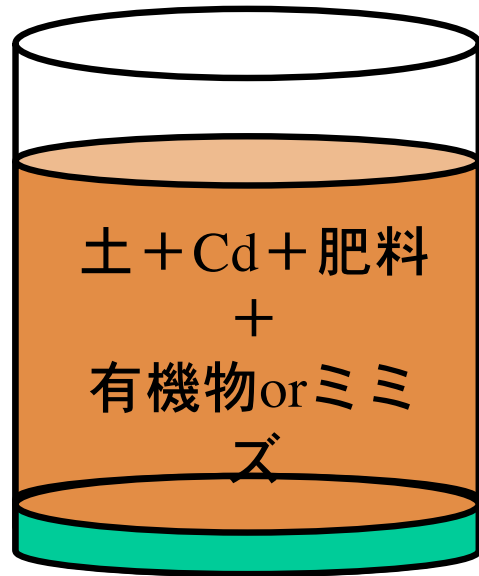
Cd単離



Cd不溶化

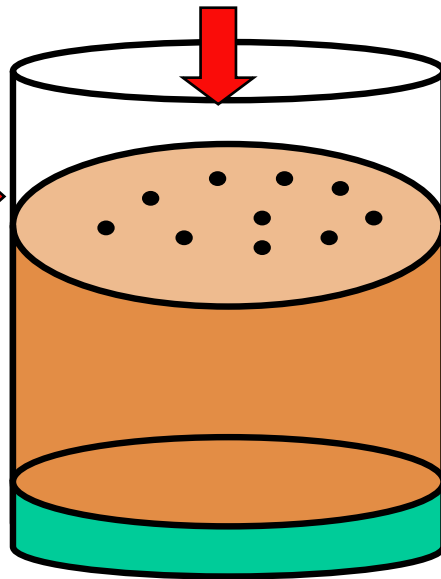
植物のポット試験

Sinapis alba: 10粒

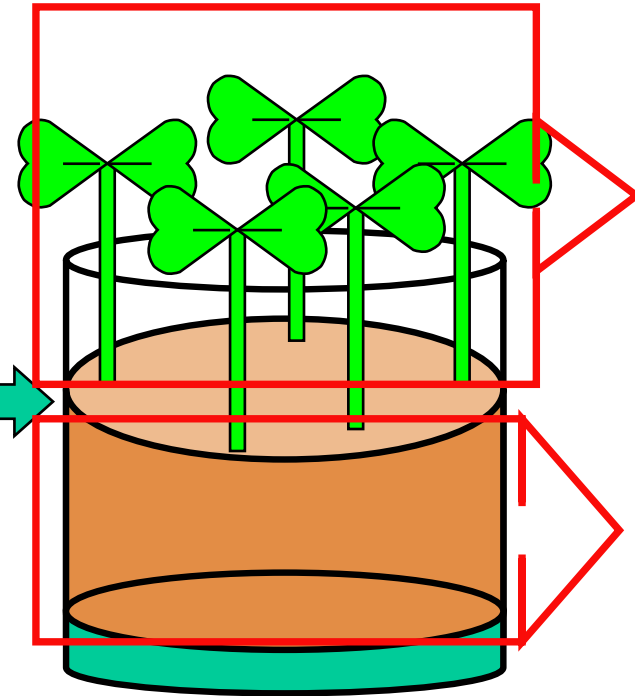


ガラスビーズ : 1
0.0g

1000mlポット容
器



発芽後間引きし
て
5本にする



30日間
温室で栽
培

茎葉・根のCd測定

土壌Cd形態分析

供試植物の特徴



シロカラシ(*Sinapis alba*)

- ・ アブラナ科の植物
- ・ 初期生育が旺盛
- ・ 短期で多収穫
(50～60日で花をつける。
草丈は80～100cmまで
生長する。)
- ・ 景観美化用植物、緑肥用植物
として利用されている。

供試土壌の性質

帯広畜産大学構内
学生実験圃場作土より
50cmから60cm付近
恵庭ローム層



有機物に乏しい

化学的性質	
pH (H ₂ O)	6.92
pH (KCl)	5.37
EC ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	54.90
N _{Total} (%)	0.04
C _{Total} (%)	<u>0.42</u>
C/N	9.72
CEC ($\text{cmol}_c\text{kg}^{-1}$)	5.21

粒径組成	
粗砂	43.66
細砂	33.11
シルト	14.60
粘土	8.64

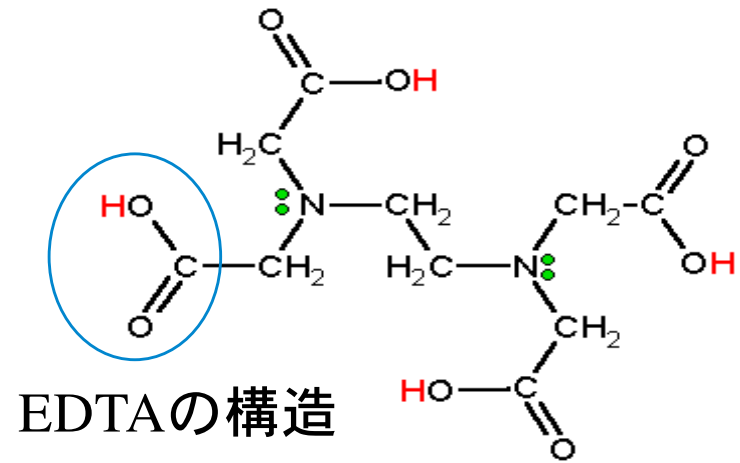
土性: 砂壤土

試験区的设计

対照区	腐植物質	有機物	合成キレート剤
Blank	火山灰土 腐植酸-L	消化液 スラリー -L	EDTA-L
	火山灰土 腐植酸-H	消化液 スラリー -H	EDTA-H
	泥炭土 腐植酸-H		
	火山灰土 フルボ酸-L		

- ・ 腐植物質、およびEDTA区についてはLは供試土壤中の濃度が500ppm、Hは1000ppmとなるように、またスラリー区についてはLは2.5%、Hは5.0%となるように添加する。
- ・ 以上の有機物と、Cdをそれぞれ供試土壤中の濃度が0ppm,10ppm,50ppmとなるようにして添加する。
- ・ 試験はそれぞれ3連で行う。

供試腐植酸の性質



	抽出土壌	官能基 (me/g)	
		カルボキシル基	フェーノル性水酸基
HA-A	火山灰土	4.27	2.14
HA-PEAT	泥炭土	2.74	2.31
FA	火山灰土	8.10	0.90

* EDTAのカルボキシル基10.8(me/g)

試験区的设计・ミミズ添加区

Control	Earthworm	Earthworm + α
Food-Blank	<i>Eisenia foetida</i> (EwE)	EDTA + EwE
	<i>Amyntas agrestis</i> (EwA)	HA + EwE
	<i>Lumbricus ruberus</i> (EwL)	

上記のミミズと卵胞(C)、Cdをそれぞれ供試土壌中の濃度が
0ppm,10ppm,50ppmとなるようにして添加する。

ミミズ添加区にはすべて被験ミミズが試験期間中に

消費可能な有機物含量の約61%相当のえさを同時に添加する

試験はそれぞれ3連で行う。

添加試料の性質

スラリーは畜大フィールド科学センターの嫌気発酵消化液を用いた

ミミズのえさは馬糞とクヌギ発酵チップを1:5.6で混合したものを用いた

	C (%)	N (%)	C / N	C d (ppm)
スラリー	1.87	0.35	5.36	0.002
ミミズのえさ	47.4	0.96	49.3	0.017

添加ミミズ種



Lumbricus

体長: 60-100 mm

rubellus

帯広畜産大学堆肥場から採取
1ポットにつき5匹 卵胞を1つ添加

棲息深度: 10-25 mm

平行生殖



Eisenia foetida

体長: 50-100 mm

市販のものを購入

棲息深度: 3-30 mm

1ポットにつき4匹、卵胞を1つ添加

平行生殖・Cdによる幼形成熟が確認

Amyntus

体長: 80-200 mm

agrestis

帯広畜産大学堆肥場から採取
1ポットにつき4匹 卵胞を1つ添加

棲息深度: 100-500 mm

集中生殖・選択的重金属蓄積



ポット試験の結果

試験区 BLANK



発芽率は

すべての区
で

ほぼ100%

Cd50ppm
で黄化

Cd Lv2
50 ppm

Cd Lv1
10 ppm

Cd Lv0
0 ppm



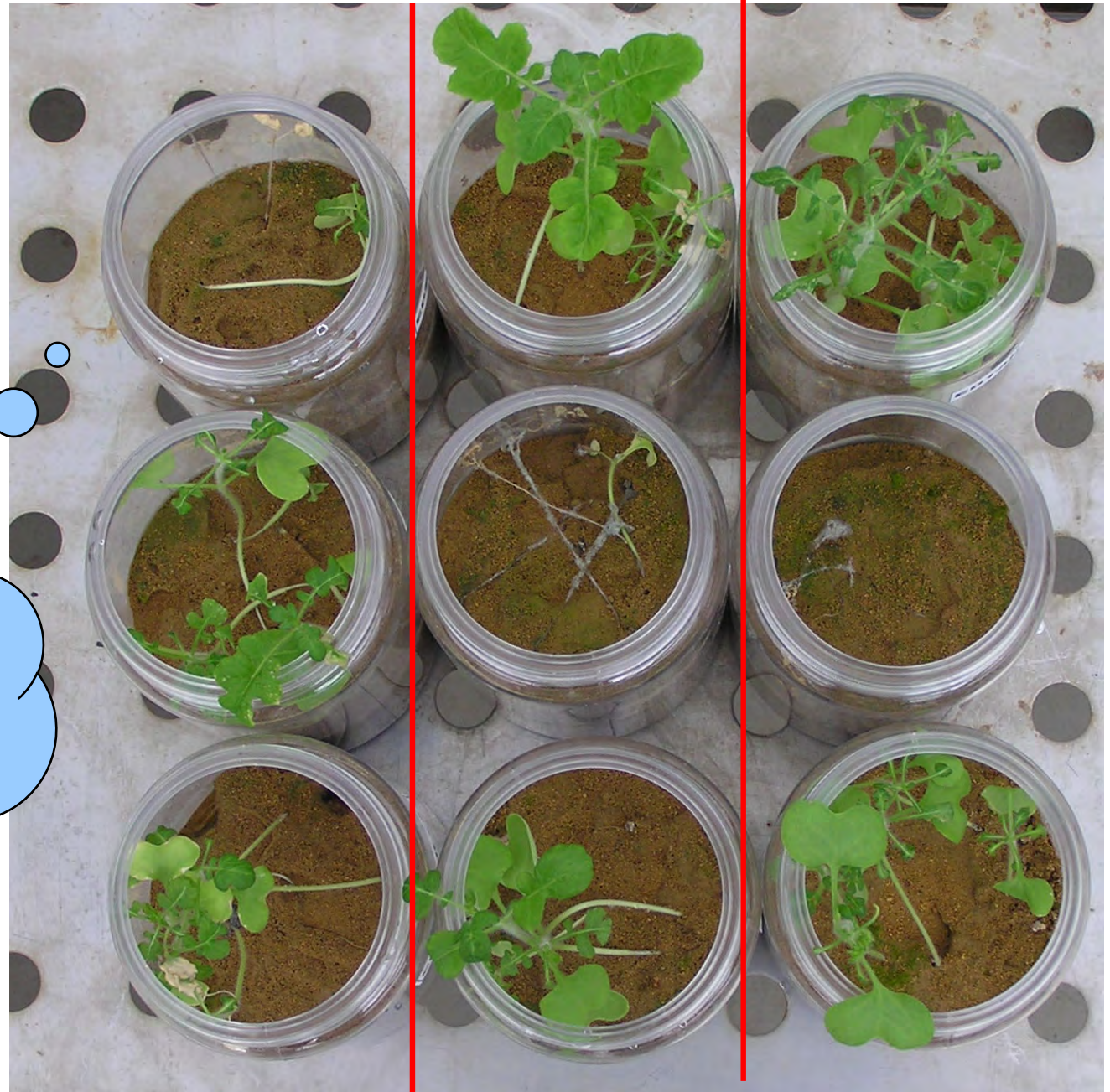
試験区 EDTA



Cd Lv2
50 ppm

Cd Lv1
10 ppm

Cd Lv0
0 ppm



EDTAは
植物の生育
を
著しく阻害

試験区 腐植酸(HA-A)

Cd Lv2
50 ppm

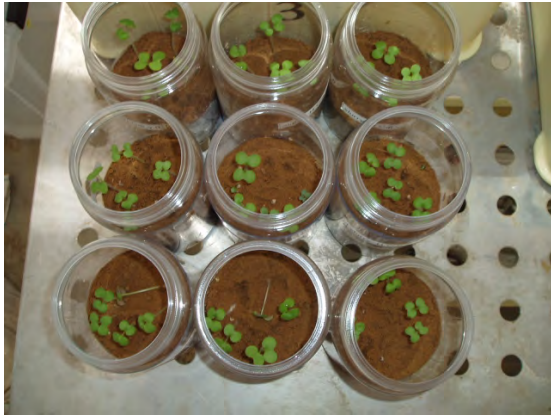
Cd Lv1
10 ppm

Cd Lv0
0 ppm



腐植酸は
Cd10ppmまで
植物の生育を
促進

試験区 slurry



Cd Lv2
50 ppm

Cd Lv1
10 ppm

Cd Lv0
0 ppm



消化液は
植物の生育
を
促進

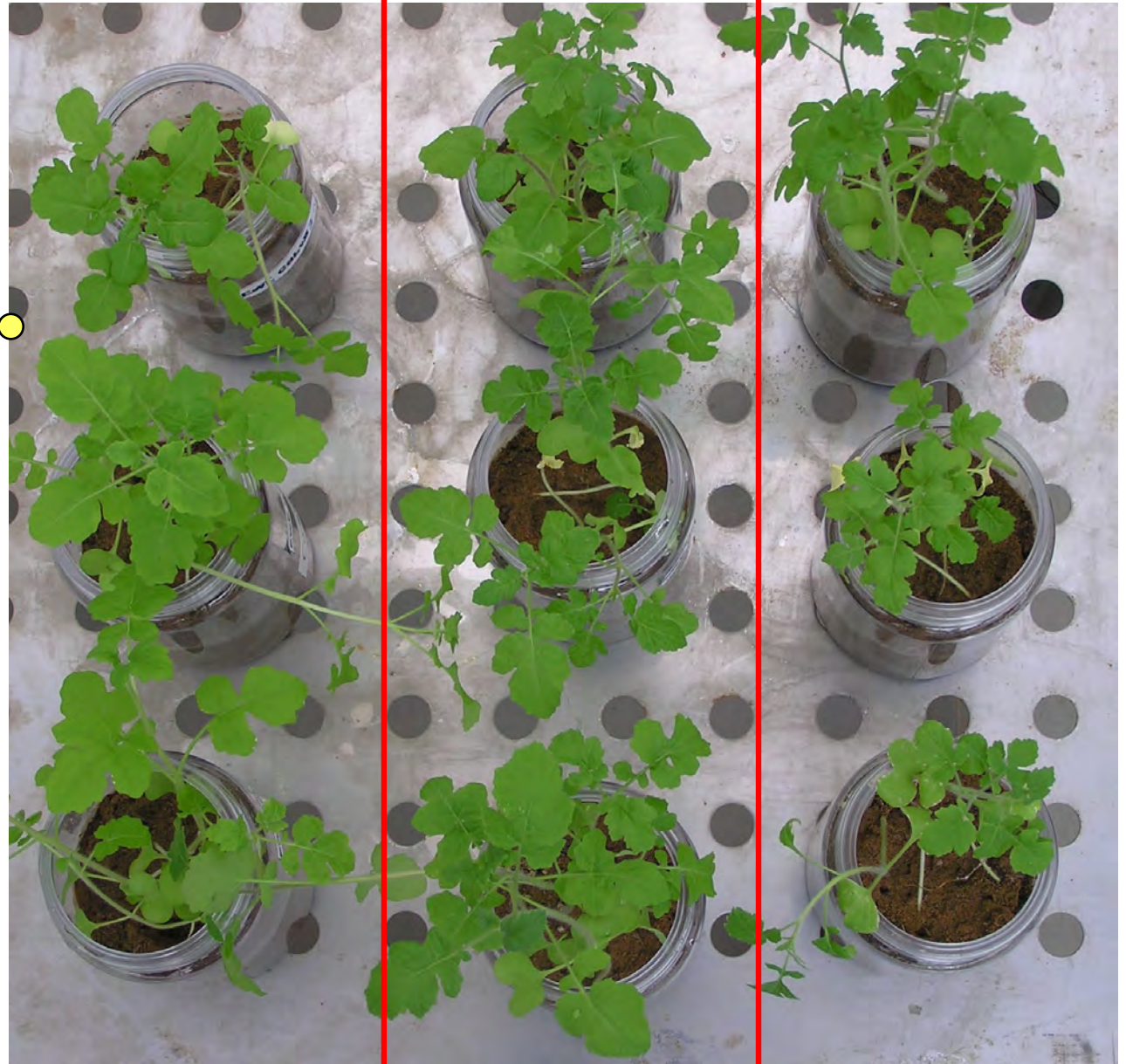
試験区 EwE



Cd Lv2
50 ppm

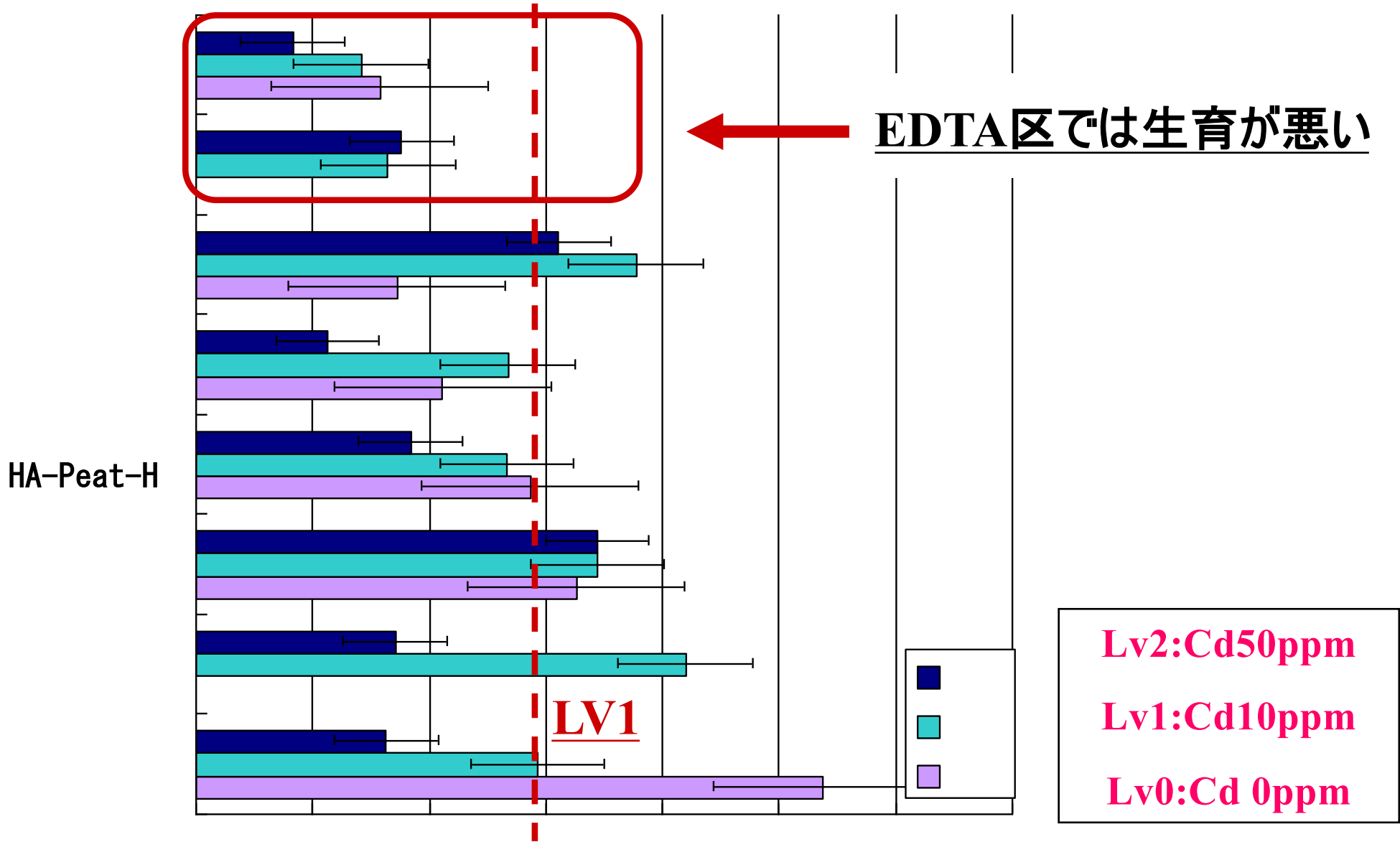
Cd Lv1
10 ppm

Cd Lv0
0 ppm

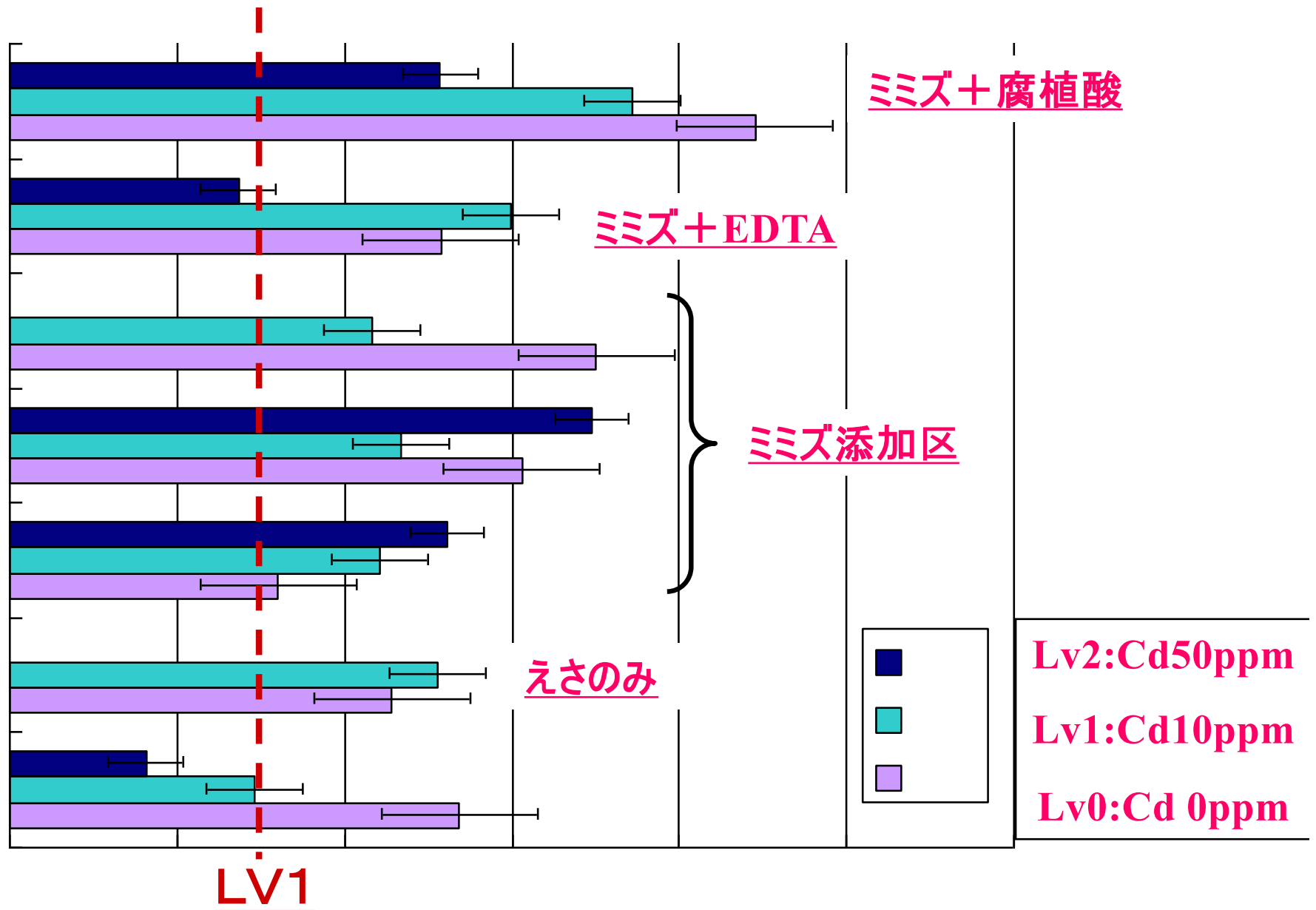


ミニズ区では
植物の生育が
促進された

茎葉収量 g DM/pot

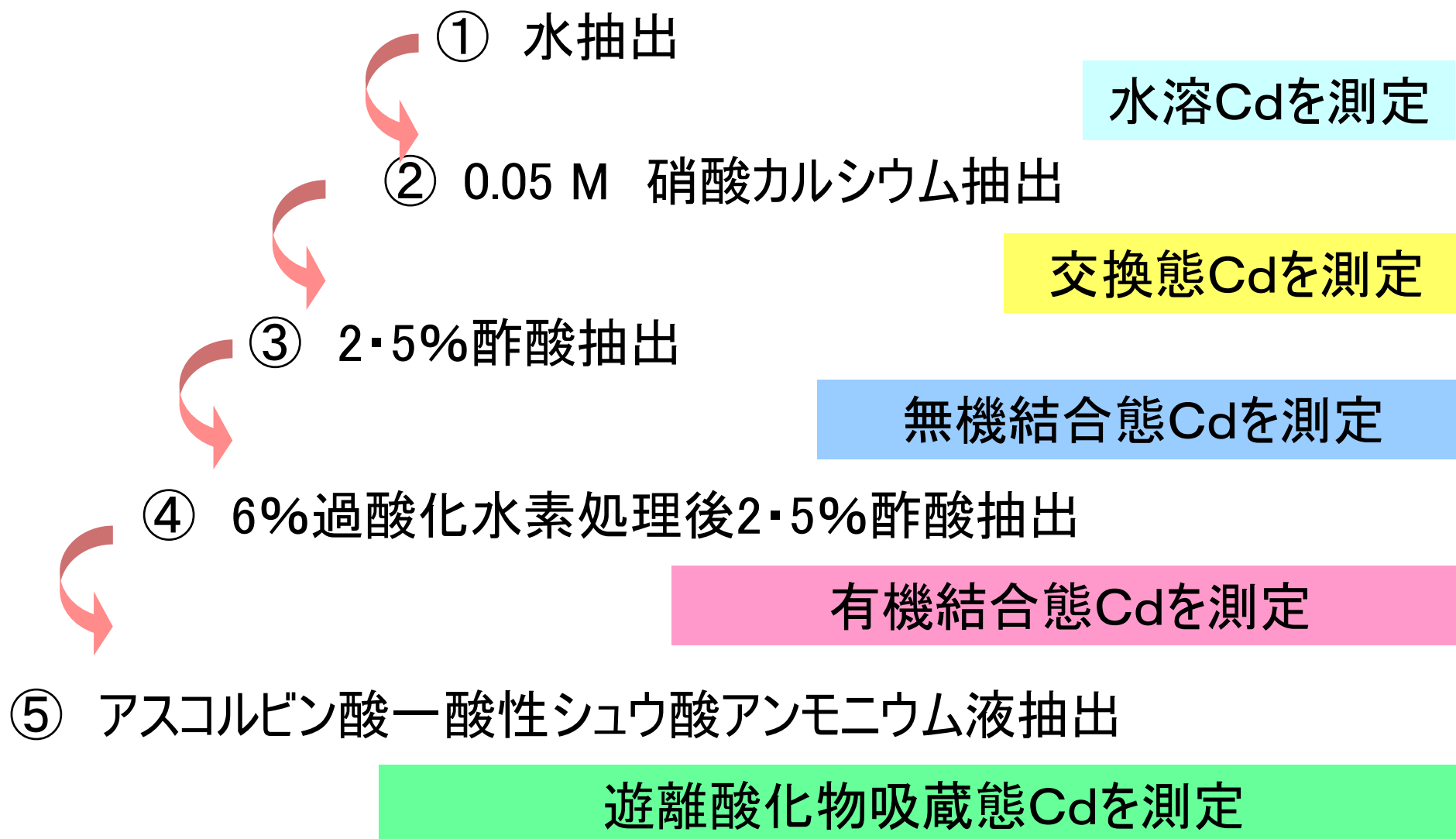


茎葉収量 g DM/pot



土壤Cd形態分析実験法

McLAREN & CRAWFORD変法

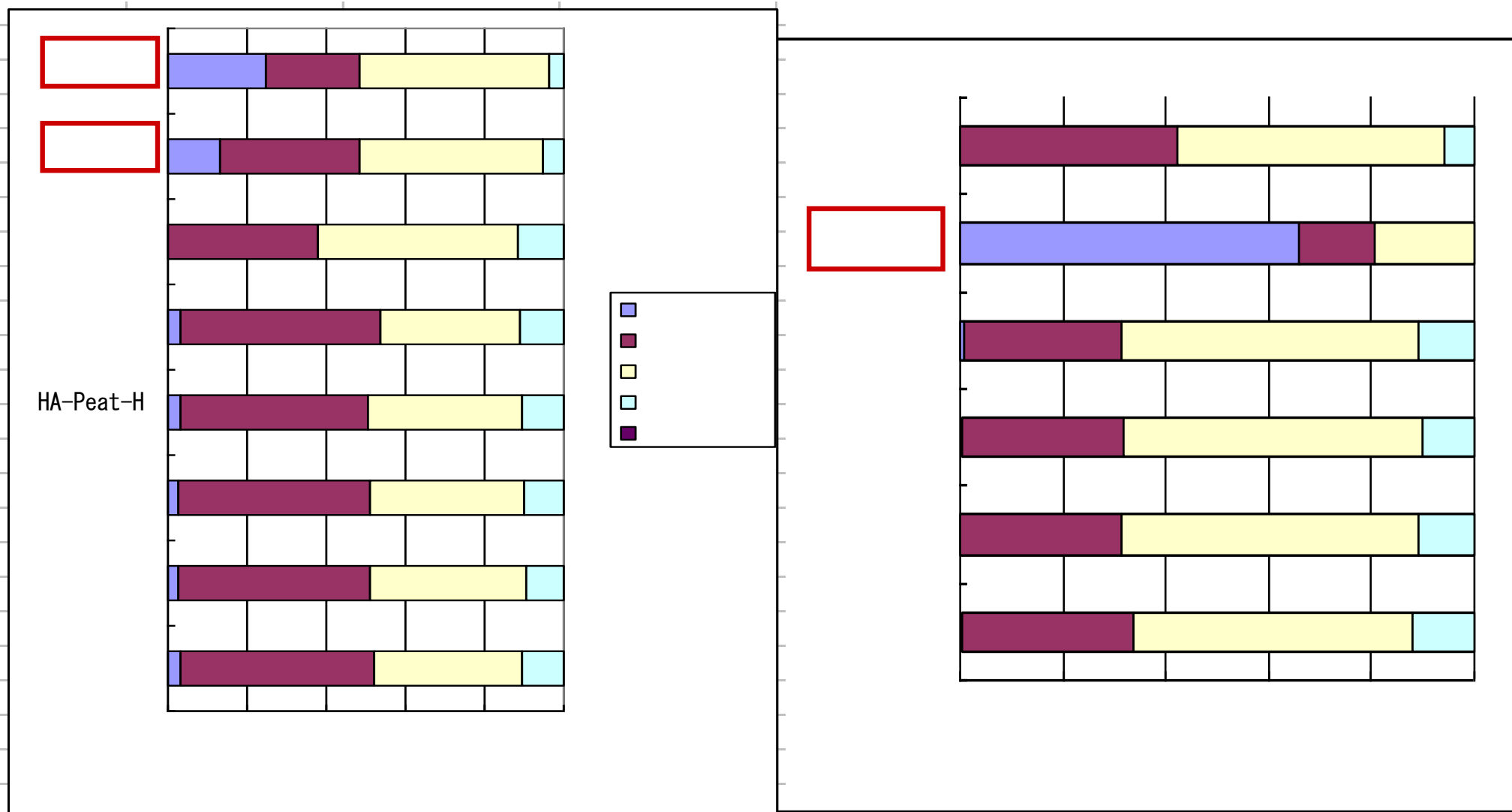


土壤中のCd形態分析 (Cd10ppm区)

植物栽培後土壤

有機物添加試験区

ミズ+有機物添加試験区

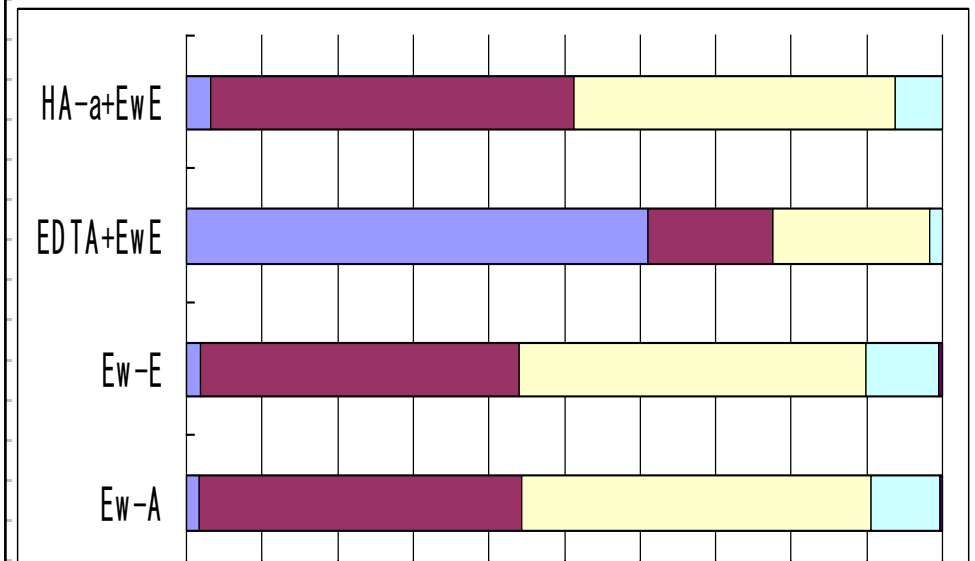
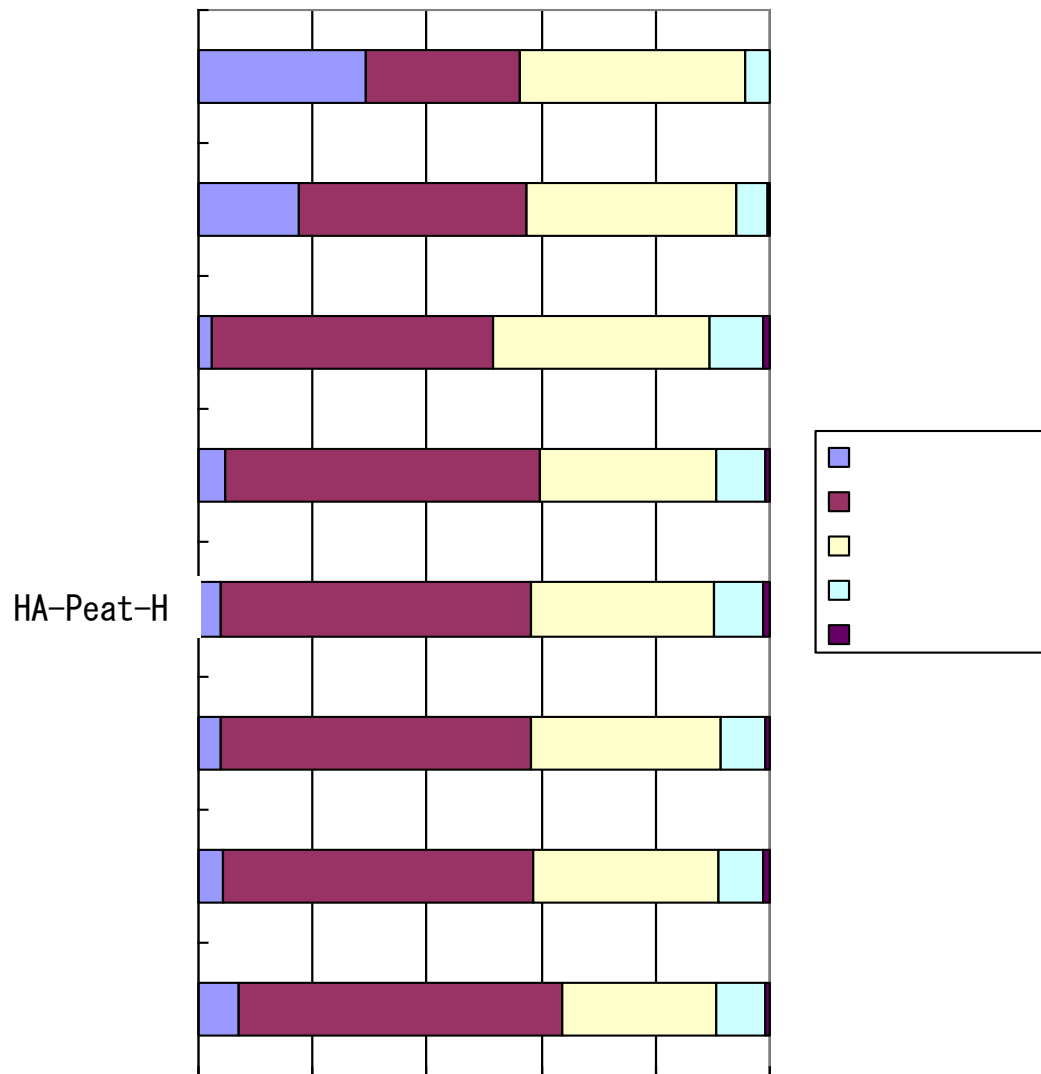


土壤中のCd形態分析 (Cd50ppm区)

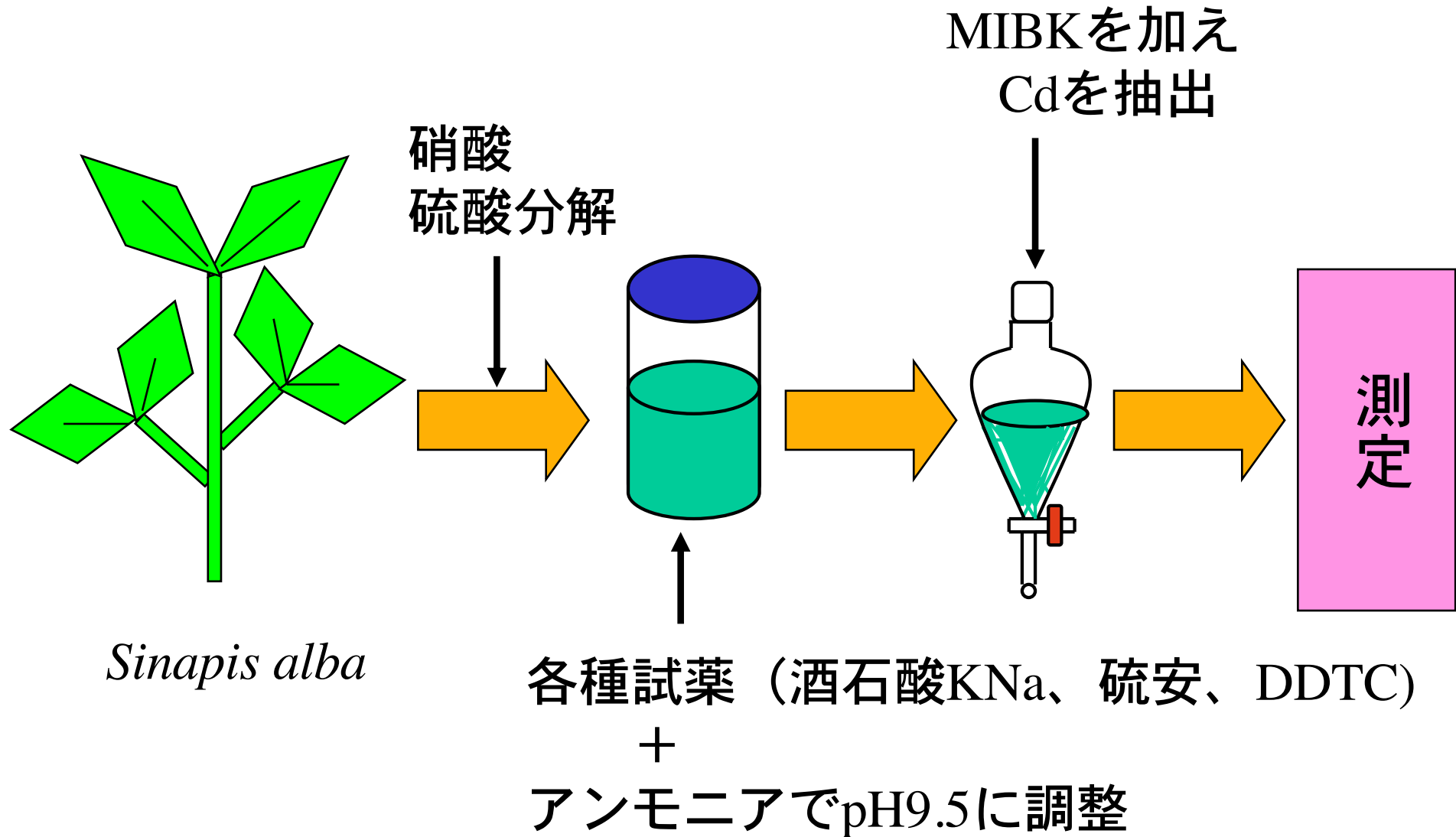
有機物添加試験区

植物栽培後土壌

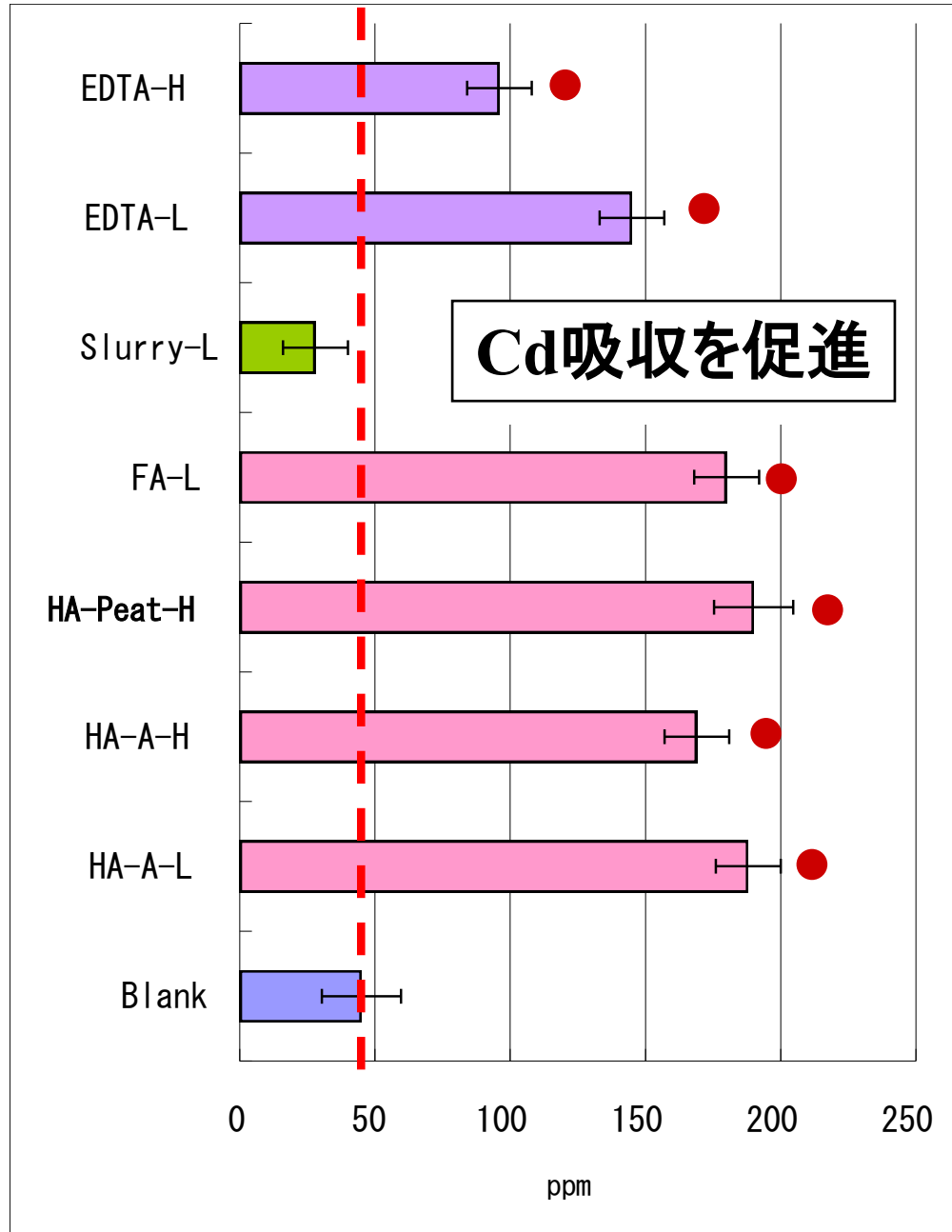
ミズ+有機物添加試験区



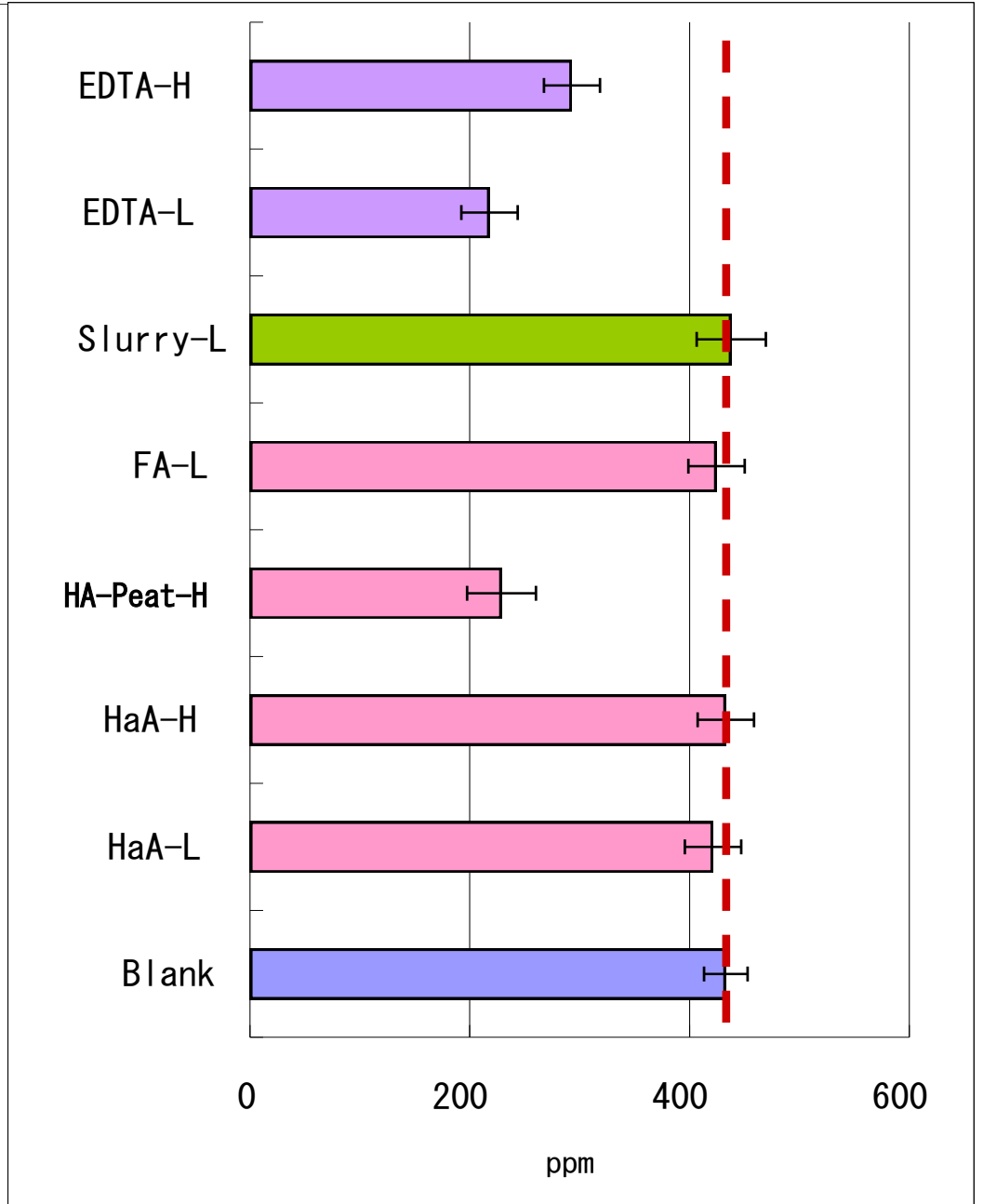
植物Cd抽出分析法



茎葉中のCd濃度 (Cd10ppm区)

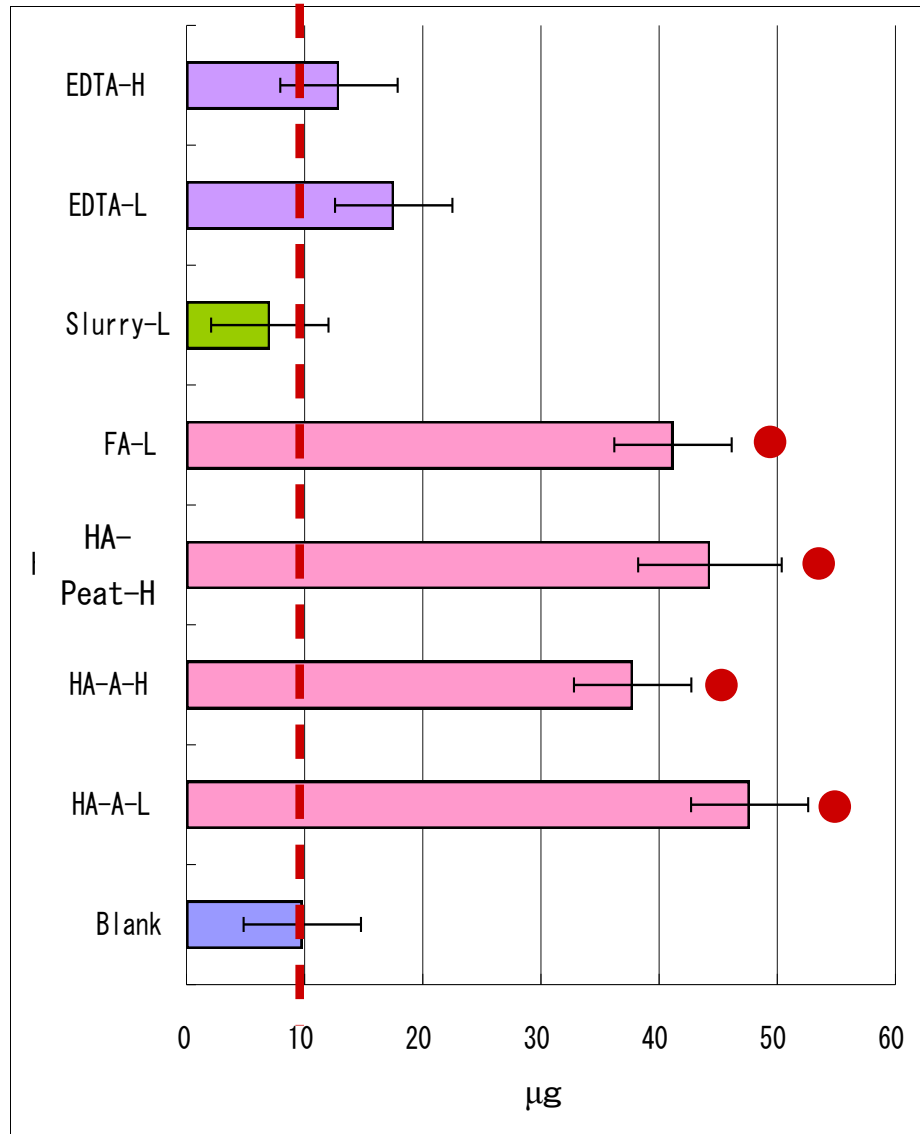


茎葉中のCd濃度 (Cd50ppm区)

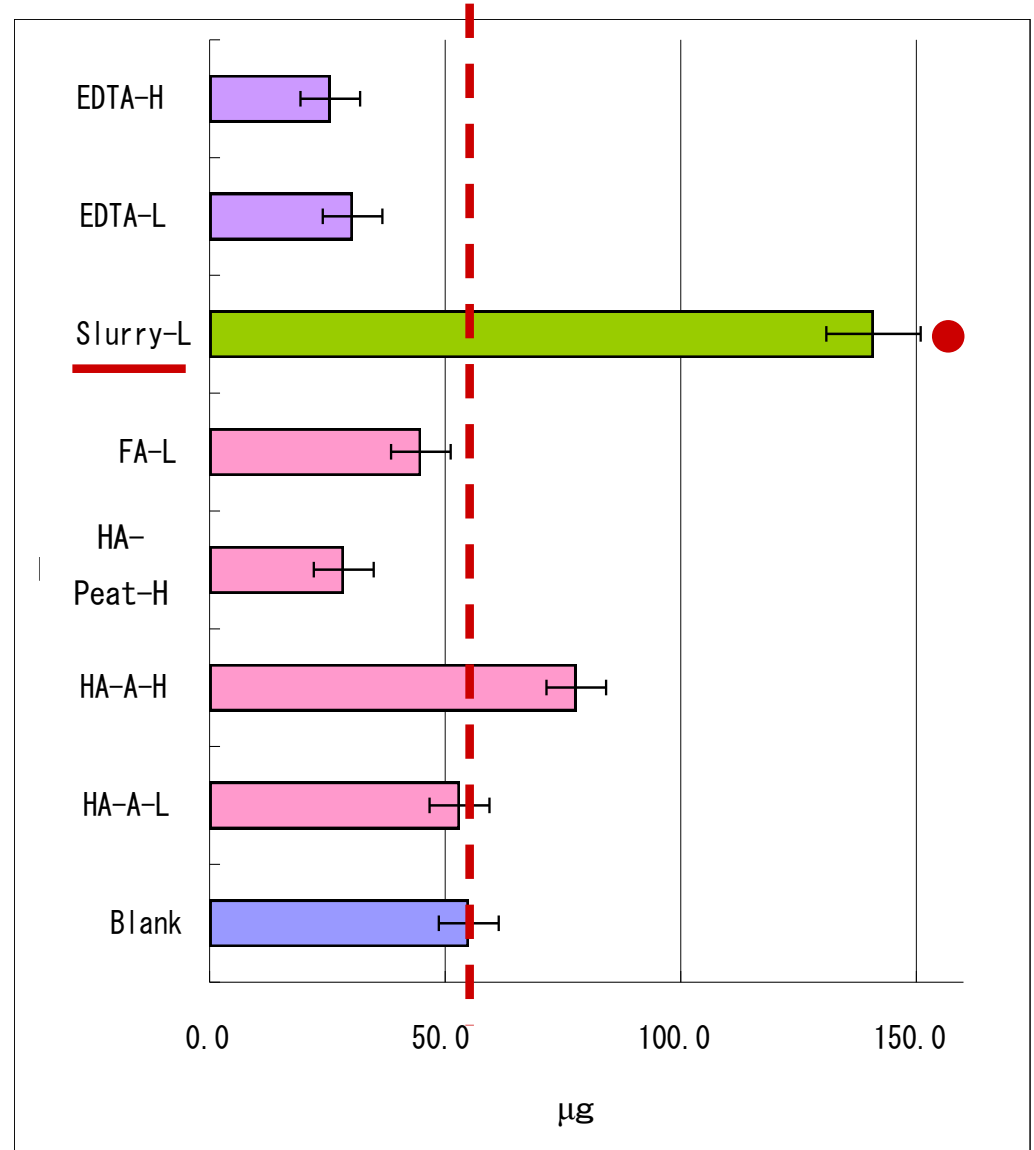


Cd全吸収量

Cd10ppm区

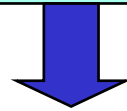


Cd50ppm区

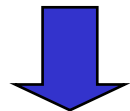


考察

腐植酸、フルボ酸を加えたCd10ppm区では
Cd吸収を促進する効果があった。

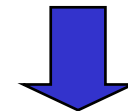


土壌中のCdの形態分析からは、腐植酸やフルボ酸と錯体を
形成した確証は得られなかった。



可能性1

腐植酸やフルボ酸と結合した
Cdが、今回の土壌分析方法では
区別できなかった



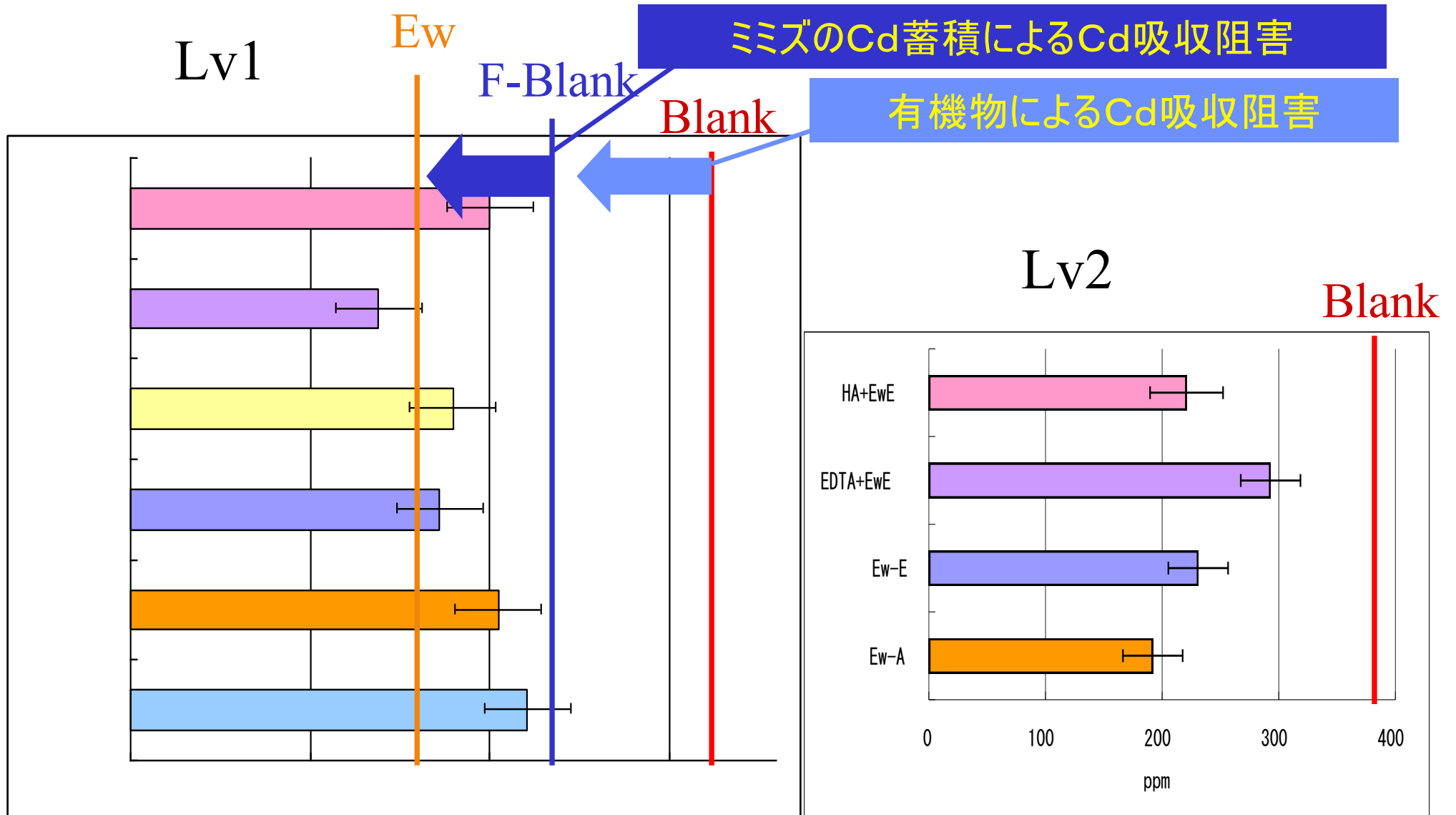
可能性2

腐植酸やフルボ酸が
ホルモン様作用により
Cd吸収を促進した

まとめ

- 土壌にEDTAを添加すると、Cd吸収促進効果は得られるが、植物の生育を阻害し、Cdの溶脱が起こるため実用的ではない。
- 腐植酸やフルボ酸を土壌中に添加するとCd吸収促進効果は得られるが、それらがどのような機構で起こるのかは、さらなる詳細な研究が必要である。

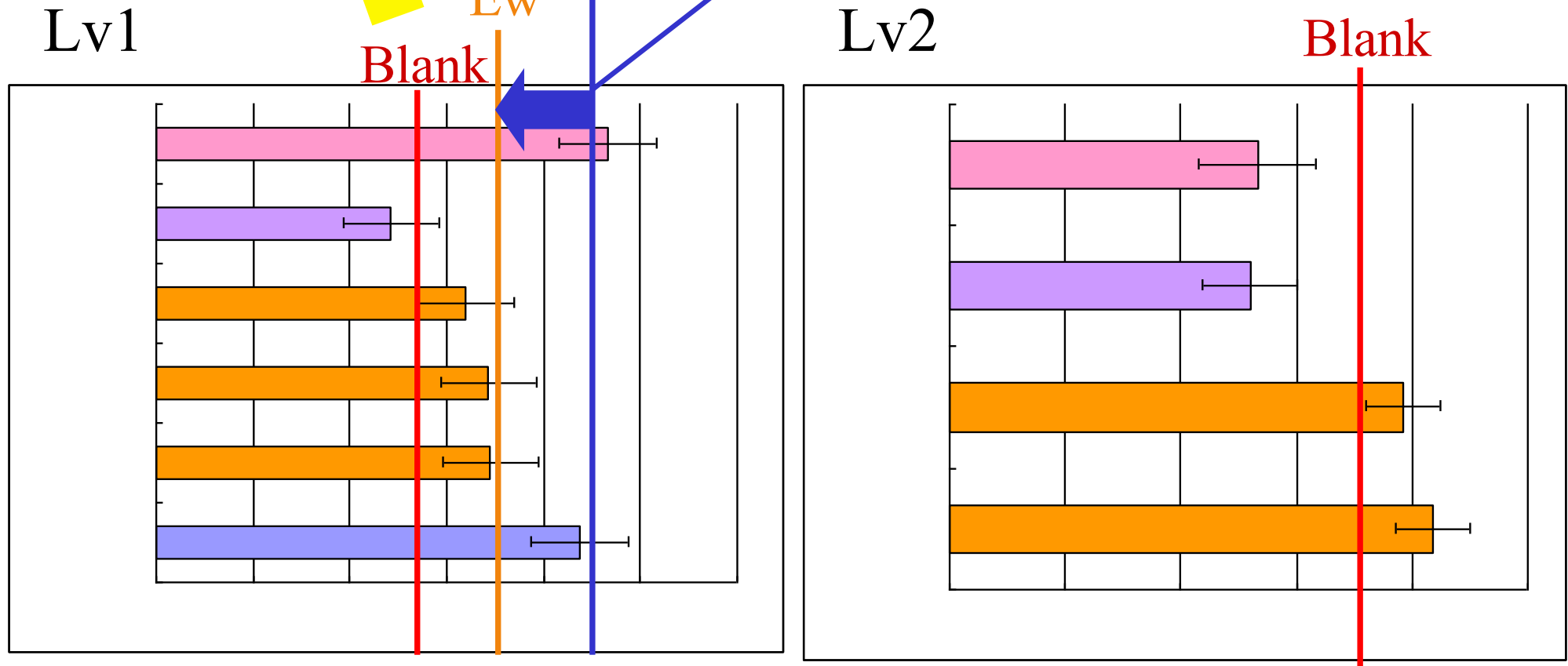
ミズ添加区の茎葉中のCd濃度



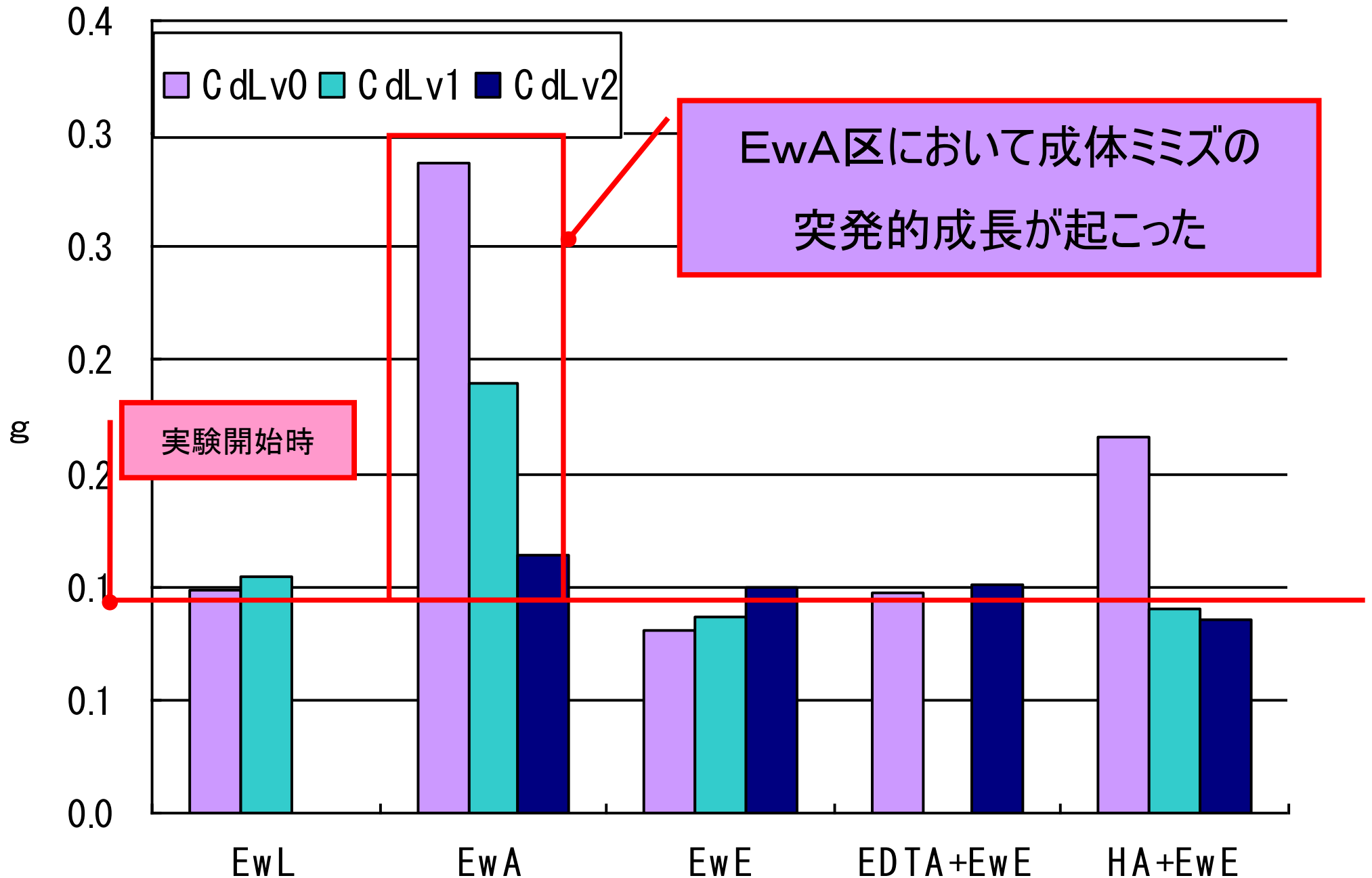
ミズ区的全Cd吸収量

有機物添加による植物成長促進でCd吸収量が増加

ミズのCd蓄積によるCd吸収阻害



Cdがミミズ成長に及ぼす影響



Cdがミミズ成長に及ぼす影響

ミミズ種 *Lumbricus rubellus*

Eisenia foetida は

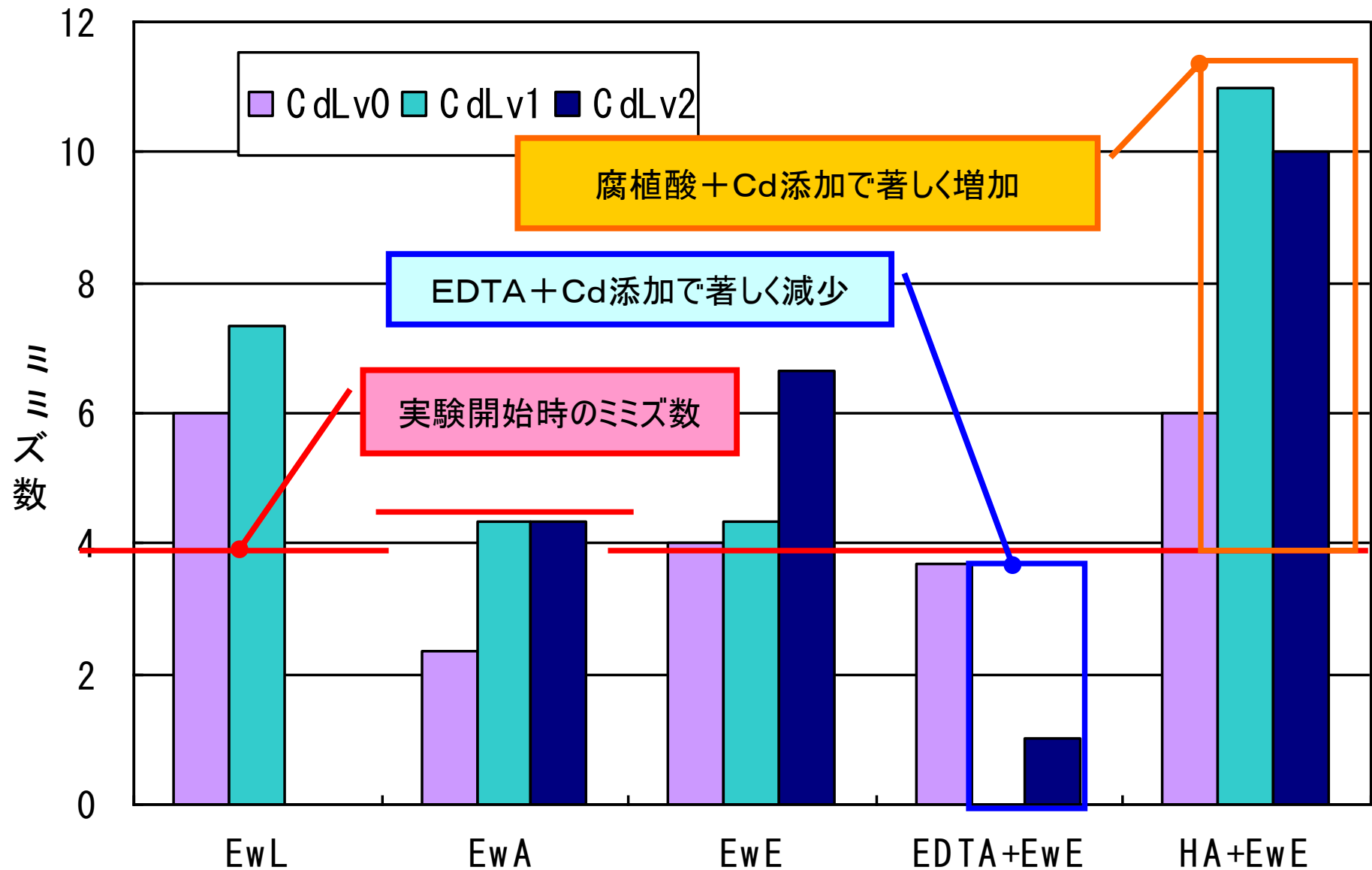
Cd10ppm、50ppm汚染土壌では、
成長阻害が起きない

ミミズ種 *Amyntus agrestis* は

Cd10ppm以下の試験区において、
何らかの作用で一部の個体に突発的成長が起きた。

Cd50ppm汚染土壌においては
この作用は阻害された。

Cdがミミズの繁殖に及ぼす影響

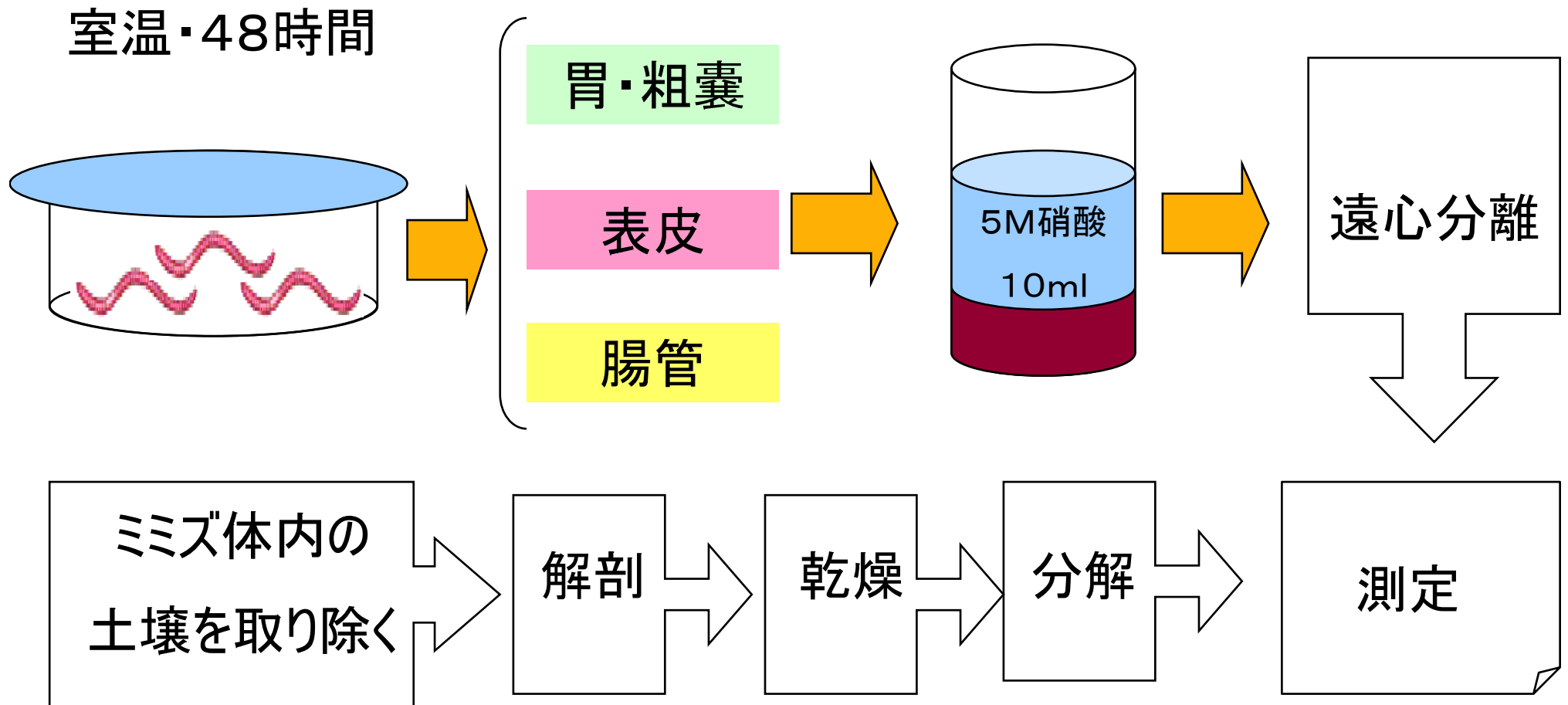


Cdがミミズの繁殖に及ぼす影響

ミミズ種 *Lumbricus rubellus* は
Cd10ppm汚染土壌において
Eisenia foetida
Amyntus agrestis は
Cd10ppm、50ppm汚染土壌において、
生存が可能であった

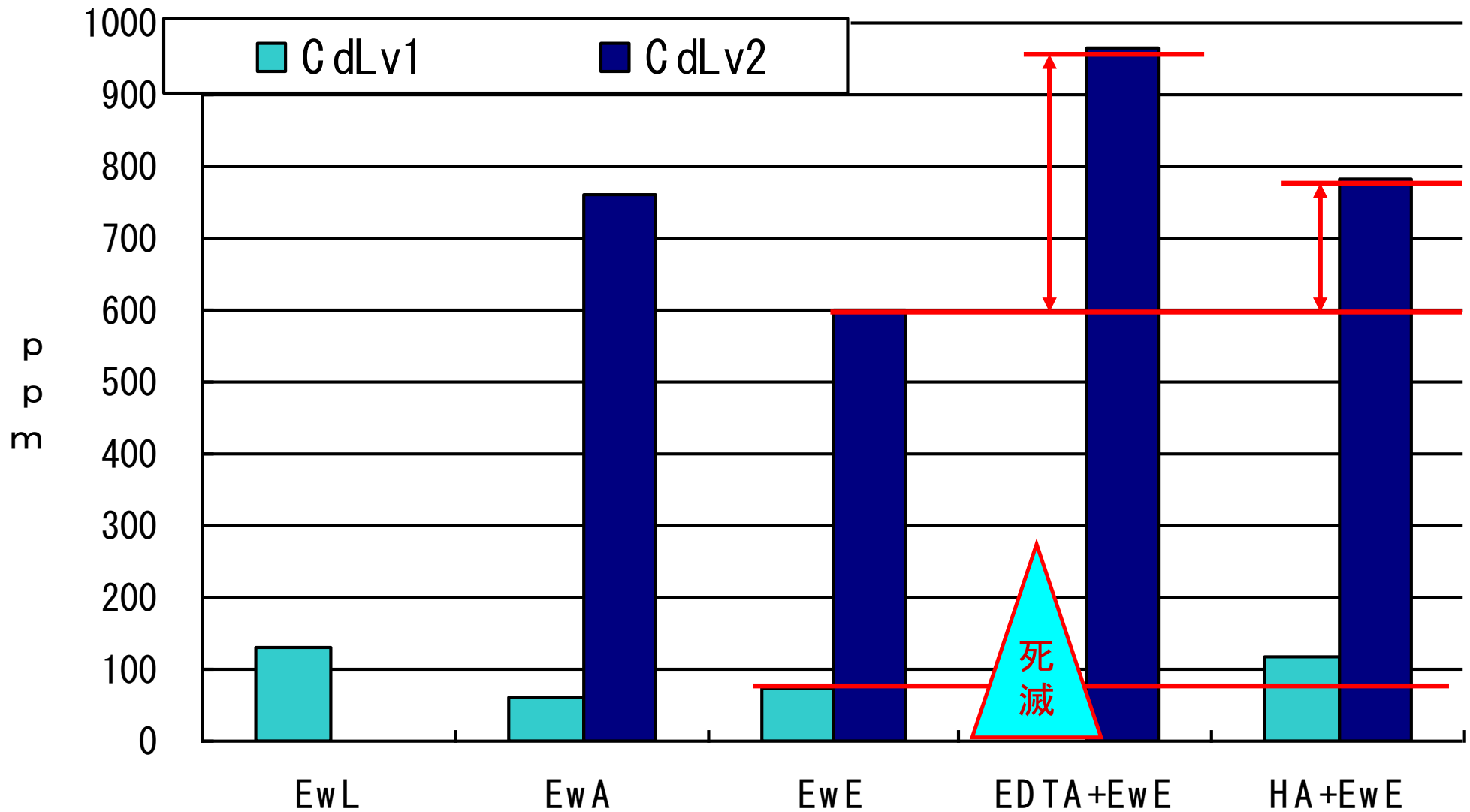
ミミズ種 *Lumbricus rubellus* は
Cd10ppm、汚染土壌において、
Eisenia foetida は
Cd10ppm、50ppm汚染土壌において、
繁殖(卵胞産出)が確認

ミズCd分析法



ミミズ組織中Cd濃度

EDTA・腐植酸添加でCd濃度が増加



ミミズ組織中Cd濃度

ミミズ種 *Eisenia foetida* は
EDTA・腐植酸の添加により、Cd濃度が増加した。

EDTA + Cdの添加区ではほとんどのミミズが死亡した

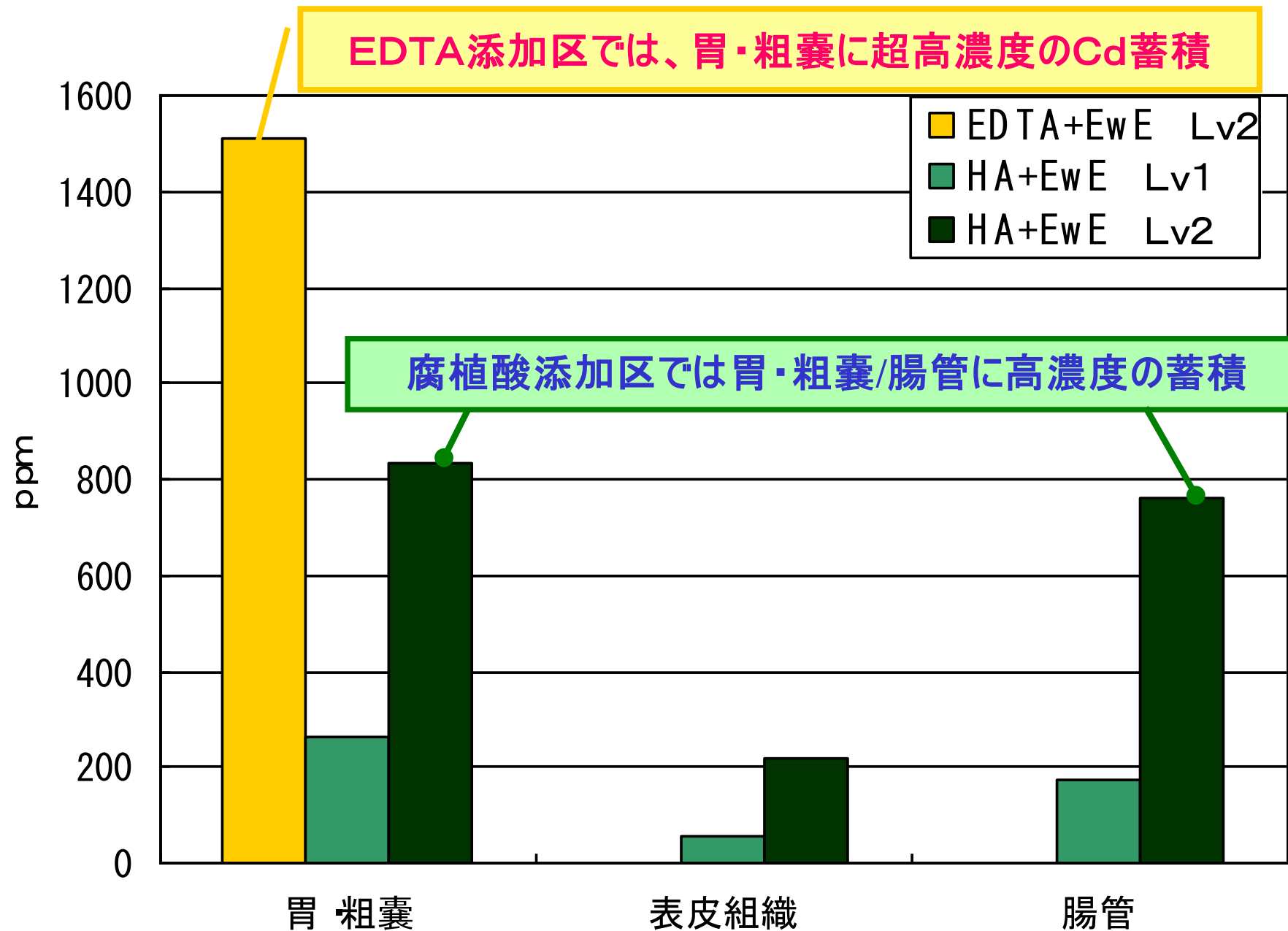
(EDTAのみの添加ではミミズの死亡は確認されなかった)

腐植酸 + Cd添加区ではミミズの数が増加した

(腐植酸のみの添加ではミミズ数の急増は確認されなかった)

EDTAと腐植酸のキレート作用の違いが影響？

ミミズ組織別のCd蓄積濃度



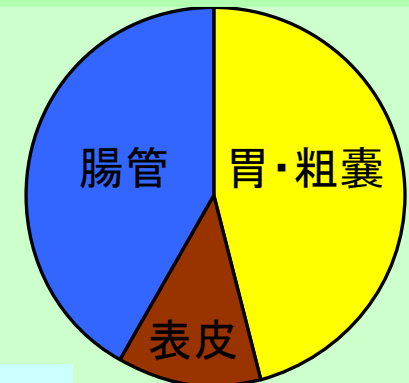
ミミズ組織別のCd蓄積

EDTA添加区では、Cdのほぼ100%が
胃・粗嚢に蓄積されていた

胃・粗嚢中のCdは1400ppm以上の超高濃度であった

腐植酸添加区では胃・粗嚢:46%、表皮:11%、腸管:43%

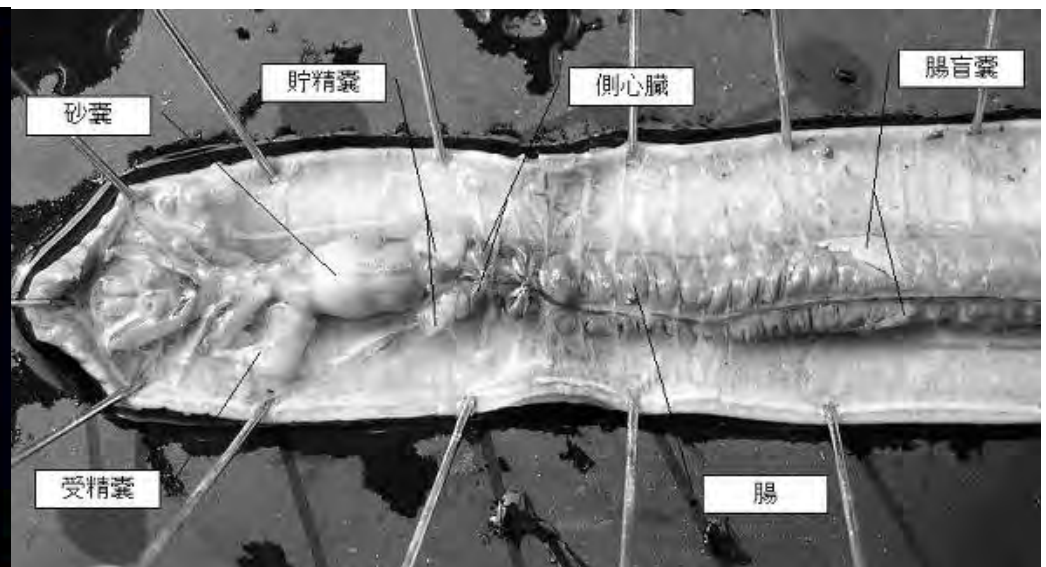
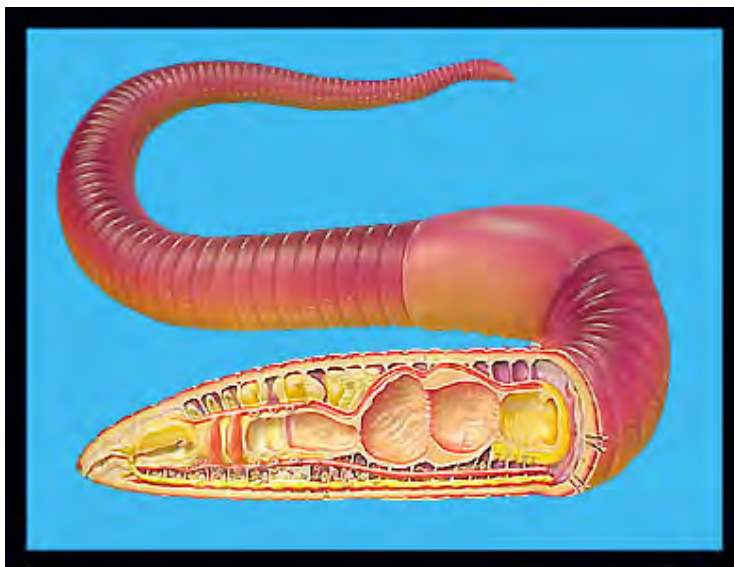
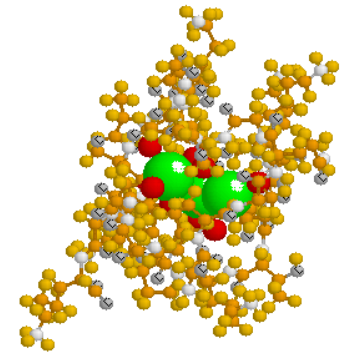
胃・粗嚢中のCdは800ppmであった



EDTA区でのミミズの死亡原因は
胃・粗嚢中のCd高濃度集積と考えられる

*E.foetida*の特性

ミズ種 *Eisenia foetida* は
重金属類を分泌酵素によってキレート化し、
粗囊中に蓄積することが知られているが、
Cdなどの有害物質は粗囊に運搬タンパクを産生し、
体外に排出するメカニズムをもっている。
また、粗囊中への一定以上の重金属集積が
幼形成熟を引き起こし、一時的に繁殖量を増大させる。



考察

注:これはあくまで私の考えです

E D T A 添加により、C d がキレート化され、
C d が粗嚢中に取り込まれた場合、その形態の変化によって
ミミズの産生タンパクにより体外に排出することができず、
1 0 0 0 p p m ~ 1 4 0 0 p p m で C d 中毒により死亡すると考
えられる。

腐植酸添加によりミミズの C d 蓄積量が増加したことから、
腐植酸はミミズが粗嚢に C d を蓄積する際のキレート剤として
若しくは、ミミズ自身の持つ
C d キレート化能力の補助的な役割を果たしていると考えられる。
この場合体外へ排出が可能である。
さらに、C d と腐植酸の施用はミミズの幼形成熟による、
一時的な繁殖量の増加を引き起こす。

まとめ

ミミズはシロカラシ(*Sinapis alba*)における
Cdファイトエキストラクションに促進効果はない

ファイトレメディエーションを目的とする場合、

EDTAなどの人工キレート剤は植物成長だけではなく、
ミミズのいない土壌の方が効率的

ミミズなどの土壌動物にも悪影響がある

ファイトレメディエーション促進剤としてのEDTAには疑問
がある

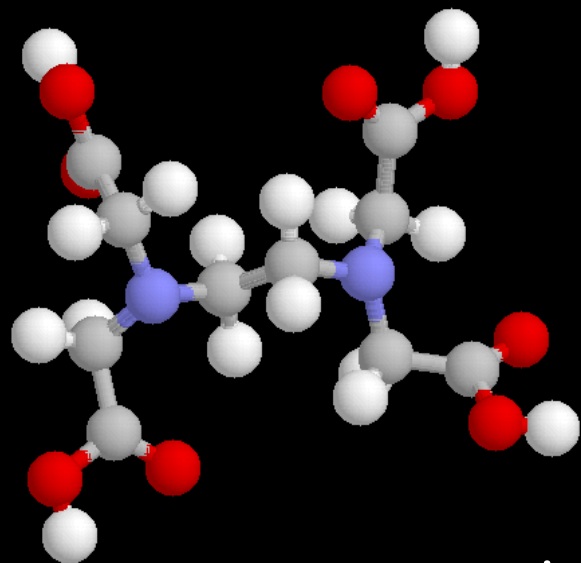
しかし、ミミズ自身の持つCd耐性・集積能力は高く、

その能力は腐植酸によって、より高めることができる

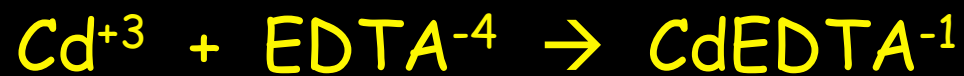
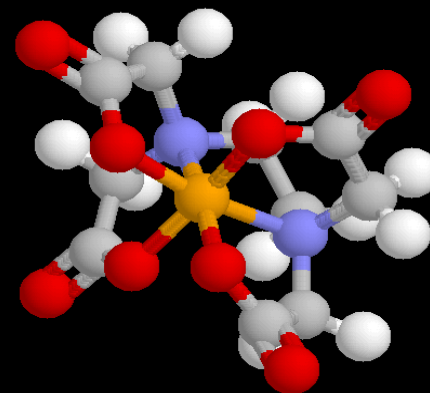
ミミズを利用したバイオレメディエーションや

作物へのCd吸収抑制などに応用

終了です



classic form of EDTA



供試土壌の性質②

交換性塩基、および可溶性Cu・Znに乏しい

交換性陽イオン	Ca	Mg	K	Na
荷電当量 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$	2.24	0.22	0.23	0.19
0.1N HCl抽出	Fe	Cu	Zn	
重金属含量 (mg kg^{-1})	35.18	1.84	0.36	