

VII-8

紅藻スサビノリ殻胞子、褐藻ワカメ遊走子、および緑藻アオノリ遊走子のモノクロラミンに対する感受性の比較

宮崎大学工学部 学員 高見 徹, 正員 丸山俊朗, 鈴木祥広
青森大学工学部 三浦昭雄

1. はじめに

沿岸域において海藻は、多様な生物が生息する海藻群落・藻場を形成する極めて重要な生物である。海藻群落・藻場保全の立場から、沿岸域に流入する排水について、海藻を供試体とした毒性試験を行う必要がある。これまでの研究において、著者らは沿岸域に流入する排水の一つとして、都市下水処理水に着目し、塩素殺菌によって添加した遊離塩素の約60%のモノクロラミン (NH_2Cl) を生成すること¹⁾、紅藻スサビノリを用いた毒性試験法を開発し、 NH_2Cl がスサビノリの葉状体および殻胞子に極めて強い毒性を示すこと^{2), 3)}、を明らかにした。スサビノリは、室内培養が可能であり、供試体の入手に制限を受けず、いつでも試験することが可能であることから、毒性試験の供試体として優れた性質をもっている⁴⁾。しかし、毒性試験用の供試生物には、毒性物質に対して感受性の高い種が望まれる。しかしながら、スサビノリ以外の海藻類に対する NH_2Cl の影響濃度は明らかにされていない。そこで本研究では、わが国の代表的な海藻である紅藻スサビノリ (*Porphyra yezoensis*) の殻胞子、褐藻ワカメ (*Undaria pinnatifida*) の遊走子、ならびに緑藻アオノリ (*Enteromorpha* sp.) の遊走子を供試体として NH_2Cl の毒性試験を行い、それぞれの海藻の生育（生残、発芽、および生長）に及ぼす NH_2Cl の影響濃度を求め、その感受性を比較検討した。

2. 材料と方法

スサビノリ殻胞子は本学研究室で保存培養している糸状体から放出させたもの、ワカメ遊走子は宮崎県門川湾で採取した成実葉から放出したもの、アオノリ遊走子は宮崎県青島海岸で採取した葉状体から放出したものをを用いた。 NH_2Cl は、 NaOCl 溶液と NH_4Cl を混合して生成させ、ジエチルエーテルを用いて抽出・精製した⁵⁾。試験培地は1/20PES培地を基本培地（塩分30）とし、 NH_2Cl 濃度0～2.0mg Cl_2/l （8濃度区、 $n=3$ ）となるように調整した。暴露方法は、底面にカバーガラス（武藤化学社製、10mm×10mm）を設置したウェルプレート（CORNING社製、容量16.8ml、底面積940mm²）に、それぞれの NH_2Cl 濃度に調整した10mlの試験培地を注入し、その上からそれぞれの海藻から採取した胞子（殻胞子または遊走子）懸濁液（0.10ml）を添加した。培養条件は、温度を除いて3種の海藻とも同じ条件とし、明暗期10hL:14hD、光量子密度140 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ （照度7000lux）とし、48時間および96時間の静置培養を行った。温度は、スサビノリ殻胞子とワカメ遊走子は15℃、アオノリ遊走子は20℃とした。48時間後にカバーガラス上を倒立顕微鏡で検鏡し、生残した発芽個体数と未発芽個体数をそれぞれ計数した。計数結果から、それぞれの濃度区における胞子の生残率および発芽率を求めた。96時間後に再び検鏡し、発芽胞子の生長率（スサビノリの場合は発芽体の細胞数、ワカメとアオノリの場合は発芽胞子の長さ）を測定した。影響の評価は、 NH_2Cl 濃度0 mg Cl_2/l を対照区として、Dunnettの多重比較法（有意水準 $\alpha=0.05$ ）⁶⁾により有意差検定を行い、最小影響濃度（Lowest-Observed-Effect Concentration, LOEC）を求めた。

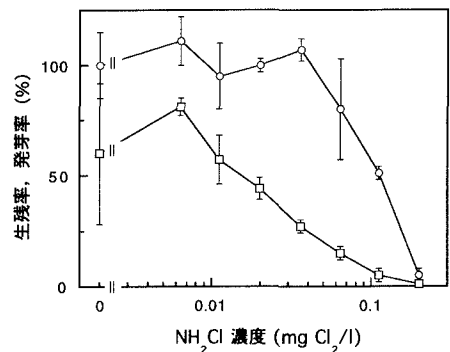


図-1 スサビノリ殻胞子の生残率と発芽率に対する NH_2Cl の影響 ($n=3$).

—○—: 生残率 (48h-LOEC 0.11mg Cl_2/l)
—□—: 発芽率 (48h-LOEC 0.036mg Cl_2/l)

3. 結果と考察

3.1 紅藻スサビノリ殻胞子に対する NH_2Cl の影響濃度

暴露から48時間後におけるスサビノリ殻胞子の生残率は、

キーワード: スサビノリ, ワカメ, アオノリ, 毒性試験, モノクロラミン, 感受性

〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1 宮崎大学工学部土木環境工学科 TEL: 0985-58-2811 FAX: 0985-58-1673

NH₂Cl 濃度 0.064mg Cl₂/l から低下し、0.11mg Cl₂/l で対照区の 51%, 0.20mg Cl₂/l で 5% にまで低下した（図 - 1）。有意差検定の結果、スサビノリ殻胞子の生残率から判定した 48 時間後の LOEC（48h-LOEC）は、0.11mg Cl₂/l が得られた。殻胞子の発芽率は、生残率よりも低い濃度においても影響が認められ、48h-LOEC 0.036mg Cl₂/l が得られた（図 - 1）。

3.2 褐藻ワカメ遊走子に対する NH₂Cl の影響濃度

48 時間後におけるワカメ遊走子の生残率は、NH₂Cl 濃度 0.20mg Cl₂/l の範囲内で影響は認められなかった（48h-LOEC >0.20mg Cl₂/l, 図 - 2）。発芽率から判定した 48h-LOEC は、0.064mg Cl₂/l が得られた（図 - 2）。ワカメ遊走子の生残と発芽に対する NH₂Cl の LOEC は、スサビノリ殻胞子よりも高い値となることがわかった。

3.3 緑藻アオノリ遊走子に対する NH₂Cl の影響濃度

48 時間後におけるアオノリ遊走子の生残率に対する NH₂Cl の 48h-LOEC は 0.11mg Cl₂/l となり（図 - 3）、スサビノリ殻胞子の生残率に対する 48h-LOEC と同じ値となった。発芽率に対する 48h-LOEC は 0.11mg Cl₂/l となり（図 - 3）、スサビノリ殻胞子（0.036mg Cl₂/l）とワカメ遊走子（0.064mg Cl₂/l）よりも高い値となった。

3.4 スサビノリ殻胞子、ワカメ遊走子、およびアオノリ遊走子に対する NH₂Cl の LOEC の比較

以上の試験結果から、3 種の海藻の生残率と発芽率に対する NH₂Cl の 48h-LOEC の大小を比較すると、生残率から判定した 48h-LOEC は、スサビノリ殻胞子＝アオノリ遊走子 < ワカメ遊走子の順となり、発芽率から判定した 48h-LOEC は、スサビノリ殻胞子 < ワカメ遊走子 < アオノリ遊走子の順となり（表 - 1）、スサビノリ殻胞子が最も NH₂Cl に対する感受性が高いことが明らかとなった。

さらに暴露から 96 時間後まで培養を継続した結果、スサビノリ殻胞子、ワカメ遊走子、およびアオノリ遊走子の生長率に対する NH₂Cl の LOEC（96h-LOEC）はそれぞれ、0.036, 0.036, 0.20mg Cl₂/l となり（表 - 1）、生長に対する影響濃度の比較からも、NH₂Cl に対するスサビノリ殻胞子の感受性が最も高いことが明らかとなった。

4. まとめ

本試験結果から、紅藻スサビノリ殻胞子、褐藻ワカメ遊走子、ならびに緑藻アオノリ遊走子の中で NH₂Cl に対する感受性が最も高い海藻は、スサビノリ殻胞子であることが明らかとなった。沿岸域の海藻群落・藻場保全の立場から排水等の毒性試験を行う場合、用いる海藻は感受性の高い種が望まれる。また、ワカメ遊走子およびアオノリ遊走子を入手するには現場採取が必要であり、しかも採取する季節が限定される（宮崎県沿岸では 3 月から 4 月）。したがって、3 種の海藻の中でスサビノリ殻胞子が毒性試験の供試体に最も適していることが明らかとなった。

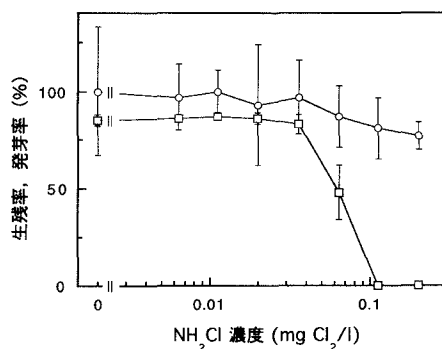


図 - 2 ワカメ遊走子の生残率と発芽率に対する NH₂Cl の影響 (n=3).

○—: 生残率 (48h-LOEC >0.20mg Cl₂/l)
□—: 発芽率 (48h-LOEC 0.064mg Cl₂/l)

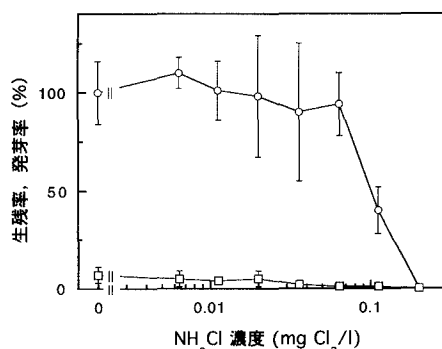


図 - 3 アオノリ遊走子の生残率と発芽率に対する NH₂Cl の影響 (n=3).

○—: 生残率 (48h-LOEC 0.11mg Cl₂/l)
□—: 発芽率 (48h-LOEC 0.11mg Cl₂/l)

表 - 1 スサビノリ殻胞子、ワカメ遊走子、およびアオノリ遊走子の生育（生残、発芽、生長）に対する LOEC の比較

海藻種	LOEC (mg Cl ₂ /l)		
	生残 (48h)	発芽 (48h)	生長 (96h)
スサビノリ殻胞子	0.11	0.036	0.036
ワカメ遊走子	>0.20	0.064	0.036
アオノリ遊走子	0.11	0.11	0.20

参考文献 1) 鈴木ら, 下水道協会誌論文集, No.166, pp.93-103, 1996. 2) 丸山ら, 第28回下水道研究発表会講演集, pp.189-191, 1991. 3) 高見ら, 土木学会第51回年次学術講演会講演概要集第7部, pp.160-161, 1996. 4) 高見ら, 土木学会論文集 VII-3, No.566, pp.71-80, 1997. 5) Bousher, A. et al., Water Research, Vol.23, pp.1049-1058, 1989. 6) USEPA (Cincinnati, OH), EPA-600/4-87/028, pp.320-417, 1988.