

VII-55

緑藻 *Selenastrum capricornutum* の増殖とリン吸収に対する亜鉛の影響

山梨大学工学部 学生員 島田 晶子
学生員 石橋 弘康
正会員 金子 栄廣

1. はじめに

生態毒性評価試験のひとつに藻類生長阻害試験がある。これは藻類の増殖が毒性物質の存在によって抑制を受けることを利用したものである。しかし、藻類の増殖を精度よく定量するには数日の培養期間が必要とされるため、迅速性が要求される場では適用が難しいなどの問題点がある。

我々の研究室では主に迅速性を追求することを目的として、増殖に代わる指標の検討を進めているが、藻体へのリン吸収を指標とすることで迅速な毒性評価ができる可能性があることがわかってきた。本稿ではこれまでに得られた知見について報告することにした。

2. 実験方法

通常の藻類生長阻害試験と同様、供試藻類には緑藻の一種である *S. capricornutum* を用いた。培地には通常 AAP 培地が用いられるが、実験 A ではリンを制限栄養素とするために、窒素濃度を 2 倍とした AAP 培地を使用した。実験 B では通常の AAP 培地を使用した。なお、供試物質には硝酸亜鉛を用い、所定濃度となるように培地に加えた。

2.1 前培養

AAP 培地で、25℃、3000lux 白色蛍光灯連続照明下で実験 A では 7 日間、実験 B では 6 日間培養した *S. capricornutum* 培養液を前培養液とし、植種に用いた。

2.2 本培養・測定項目

・実験 A : 藻体リン含有率に及ぼす要因の検討

200ml 三角フラスコに AAP 培地 100ml を入れ、滅菌し、前培養液を無菌的に 5% 植種した。これを 25℃、3000lux の白色蛍光灯連続照明下で培養を行ない、2、4、6、8 および 10 日目における、各項目を測定した。測定項目は、藻体量の指標としての SS、および溶液中

の溶存態リン酸濃度 Sol-P とした。各時点での Sol-P と最初に培地に供給した初期リン酸濃度との差から藻体中のリン酸濃度 Sus-P を、また Sus-P と SS を百分率で表した藻体のリン含有率 Q を求めた。

なお、溶存態リン酸の減少量から Sus-P が求められることの妥当性、すなわち、培地中の成分と反応してリンが吸着する可能性がないこと、および藻体へのリンの吸着が無視できることについては予備実験で確認した。

・実験 B : 短時間での溶存態リン酸濃度の挙動

スクリーキャップ付き 30ml 試験管に AAP 培地を入れ、前培養液を非無菌的に 5% 植種した。0~96 時間で 8 段階培養し、溶液中の溶存態リン酸濃度 Sol-P を測定した。

培養期間が短いため、非無菌的植種とし、操作を容易にした。これについて無菌的植種と比較したがほとんど差はみられなかった。

3. 結果と考察

3.1 実験 A : 藻体リン含有率に及ぼす要因の検討

図 1 は亜鉛添加後の各条件での藻体量 SS の時間変化を、図 2 は培地中の溶存態リン酸濃度 Sol-P の時間変化を示したものである。図 1 から亜鉛濃度が高いほど藻体量が少なくなっており、亜鉛の影響により増殖が阻害されていることがわかる。また、図 2 からどの条件でも培養時間が経過するごとに Sol-P が小さくなるが、亜鉛濃度が高いほどその減少のしかたは鈍くなることがわかる。

これらの結果から、藻体のリン含有率を求め、その時間変化を図 3 に示した。亜鉛濃度が高いほど藻体のリン含有率が高くなることがわかった。これは前報¹⁾と一致する結果である。また、その違いは培養初期に大きく、時間経過とともにその差は小さくなった。

キーワード ; バイオアッセイ、藻類、重金属、リン吸収、

連絡先 ; 〒400-8511 甲府市武田 4-3-11 Tel. 0552-20-8601 Fax. 0552-20-8770

図4は藻体量と藻体のリン含有率との関係を示したものである。藻体量が低いときほど藻体のリン含有率は高い値を示し、藻体量が高くなるにつれて藻体のリン含有率は低くなるという傾向がみられる。しかし、亜鉛の添加の有無や添加量にかかわらず、SSとSol-Pの関係はほぼ同一の曲線上に乗っているようにみえる。このことから、藻体のリン含有率は培地中の亜鉛の有無によって影響を受けているのではなく、藻体量に依存していると考えられた。

したがって図3に示したように亜鉛の有無によって同一培養時間での藻体のリン含有率に差がみられたのは、リン吸収が増殖に先行して起こること、ならびにこれらの時期が亜鉛の有無によって影響を受けたことによるものであると推察できた。

3.2 実験B：短時間での溶存態リン酸濃度の挙動

図5は溶存態リン酸濃度Sol-Pの8時間までの時間変化を示したものである。この図より短時間でも亜鉛濃度が高いほどSol-Pの減少が緩やかであることがわかった。このことから、リン酸の挙動を調べることで従来の藻類生長阻害試験よりも短時間で毒性評価ができる可能性があると考えられた。

4. まとめ

藻体のリン含有率と増殖抑制の関係を調べた。その結果以下のことが考えられた。

- 1) 同一培養時間で比較すると、増殖抑制が大きくなるにつれて藻体のリン含有率が高くなることが確認された。
- 2) 1)の現象の要因の検討を行ったところ、藻体のリン含有率は藻体量に依存していることが確認できた。

したがって、亜鉛の影響などにより藻体の増殖抑制が起こると、培地中の溶存態リン酸の藻体への取り込みが増殖に先行して起こっているため、1)の現象が起こると考えられた。

また、従来の藻類生長阻害試験では数日の培養期間での藻類の増殖挙動によって評価しているが、リンに着目することによってより短い時間での毒性評価も可能ではないかと考えられた。

参考文献

- 1) 島田晶子ら：土木学会第53回年次学術講演会講演概要集第Ⅶ部門，pp. 12-13, 1998.

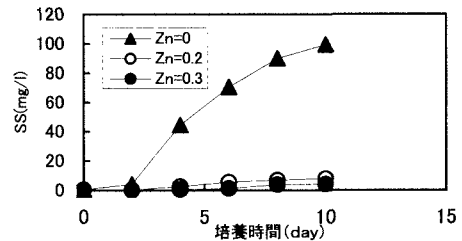


図1 藻体量の時間変化

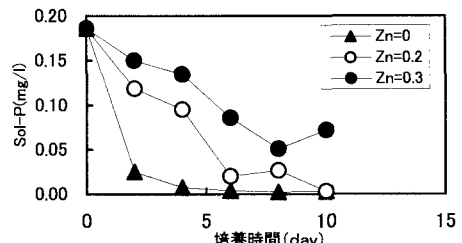


図2 Sol-Pの時間変化

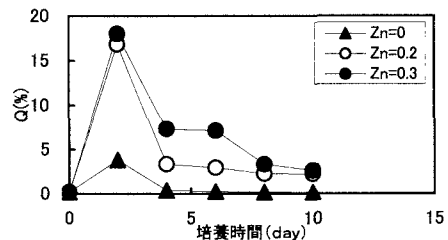


図3 藻体のリン含有率Qの時間変化

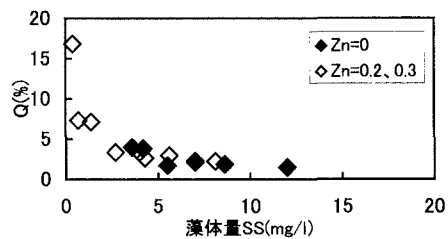


図4 藻体量とリン含有率との関係

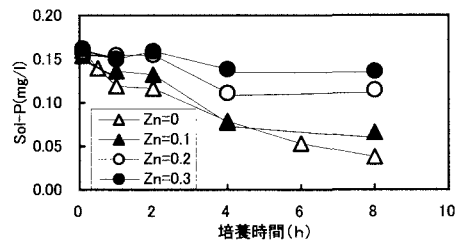


図5 短時間でのリン酸濃度変化