

塩素酸イオンが海藻の生育に及ぼす影響

大分工業高等専門学校 正会員○高見徹 宮崎大学工学部 正会員 丸山俊朗 青森大学工学部 三浦昭雄

1. はじめに

著者らはこれまで海藻（紅藻スサビノリ *Porphyra yezoensis* Ueda）を供試生物として、塩素消毒および塩素代替消毒下水処理水の毒性評価を行ってきた^{1, 2)}。塩素代替消毒剤一つである二酸化塩素は、遊離塩素のように結合塩素や有機塩素化合物を生成しないものの、水中で分解し塩素酸イオン (ClO_3^-) としてmg/lレベル以下の濃度で残留する。 ClO_3^- は魚類や無脊椎動物と比較して藻類に対する毒性が強く、1980年代にはバルト海において製紙工場からの二酸化塩素漂白排水中の ClO_3^- （平均濃度53mg/l）が海藻（褐藻 *Fucus vesiculosus*）群落に被害を及ぼしたことが報告されている³⁾が、各種海藻に対する毒性や短期間あるいは長期間の暴露影響に関する知見は必ずしも十分とはいえない。そこで本研究では、塩素酸イオンが各種海藻の生育に及ぼす影響に関する基礎的な知見を得るために、わが国の代表的な海藻である紅藻スサビノリ、褐藻ワカメ (*Undaria pinnatifida*)、緑藻アオサ (*Ulva spp.*) に対する短期間および長期間暴露による ClO_3^- の生育阻害濃度を明らかにすることを目的とした。

2. 材料と方法

2.1 止水式暴露試験

海藻の初期発生段階に対する短期間暴露の影響を検討するため、スサビノリの殻胞子とワカメの遊走子を供試生物として止水式の4日間暴露試験を行った。殻胞子は実験室内で保存培養している貝殻糸状体から採取し、遊走子は大分県佐賀県沿岸に自生していた成実葉から採取した。試験物質には塩素酸ナトリウム (NaClO_3) を用いた。底面にカバーガラス (10x10mm) を設置した24穴マイクロプレートに、所定の ClO_3^- 濃度 (0~32000mg/l) に調整した1/20PES培地（塩分30；0.45mg N/l, 0.056mg P/l）を注入し、所定量の殻胞子または遊走子懸濁液を添加した。その後培養庫 (15°C, 10hL:14hD) 内で4日間静置した。4日後に倒立顕微鏡を用いてカバーガラス上を観察し、殻胞子の場合は発芽率と細胞分裂速度（生長率）を、遊走子の場合は発芽率と発芽管の長さを求めた。 ClO_3^- の生育阻害濃度として、Dunnett-testによって最小影響濃度 (LOEC, 有意水準 $\alpha=0.05$) を求めた。

2.2 流水式連続暴露試験

海藻の成体に対する長期間暴露の影響を検討するため、スサビノリ、ワカメ、ならびにアオサの葉状体を用いて流水式の連続暴露試験を行った。図1に示す装置を用いて、所定の ClO_3^- 濃度 (0~100mg/l) に調整した0.45μmろ過海水（塩分35；0.01mg N/l以下, 0.003mg P/l以下）を、培養器（200mlビーカー）内にペリスタポンプを用いて連続的に流入させた。流量は0.75ml/minとし、培養器内の滞留時間を1/2潮周期 (6hr) とした。培養器内には、スサビノリ葉状体は面積約0.4cm²の個体を、ワカメとアオサ葉状体はコルクボーラーで直径約1cm（約0.9cm²）に切り抜いた葉片を1容器につきそれぞれ5個体ずつ投入し、攪拌子とマグネットスターを用いて葉状体が浮遊する程度に攪拌（約720rpm）した。暴露開始から7日後と14日後に葉状体をデジタルカメラで撮影してPC上に取り込み、画像処理解析を行ってそれぞれの葉状体の面積を求めた。所定の ClO_3^- 濃度と葉状体の7日後と14日後の面積増加率（暴露開始時の面積（初期値）に対する7日後と14日後の面積の比）から、LOEC（有意水準 $\alpha=0.05$ ）を求めた。

3. 結果と考察

3.1 短期間暴露における ClO_3^- の生育阻害濃度

止水式培養による4日間暴露後の ClO_3^- 濃度とスサビノリ殻胞子の発芽率および生長率の関係を図2に示す。殻胞子の発芽率はコントロール (0mg/l) ~3200mg/lにおいてほぼ一

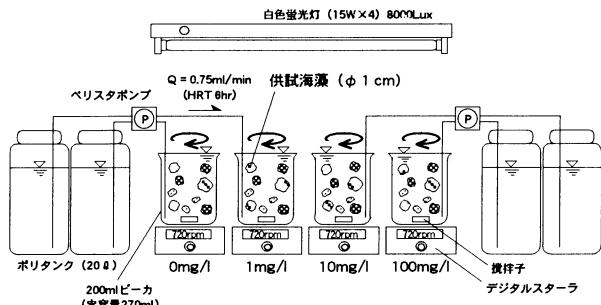


図1 流水式培養装置.

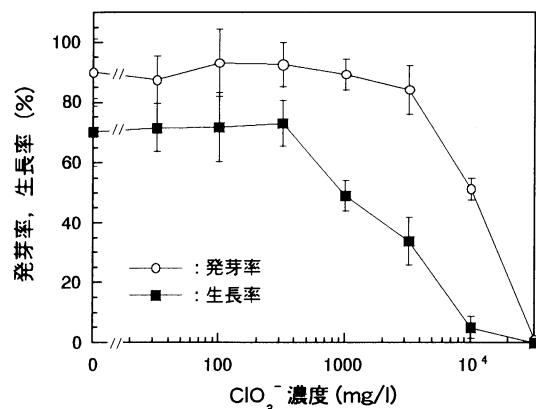


図2 止水式4日間暴露によるスサビノリ殻胞子の発芽率および生長率に及ぼす ClO_3^- の影響.

キーワード：塩素代替消毒剤、塩素酸イオン、海藻、生育阻害濃度

〒870-0152 大分市牧1666番地 大分工業高等専門学校土木工学科 TEL: 097-552-7596 FAX: 097-552-7949

定の値（約90%）となった。しかし、10000mg/l以上の発芽率はコントロールに対して有意に低下し、32000mg/lでは多くの殻胞子が生残していたにも関わらず、そのほとんどが発芽しなかった。この結果、4日後における殻胞子の発芽率に対する ClO_3^- のLOEC（4d-LOEC）は10000mg/lが得られた。また、生長率は発芽率よりも低い濃度で阻害が認められ、4d-LOECは1000mg/lが得られた。一方、ワカメ遊走子の発芽率は32000mg/lのみで阻害が認められ、4d-LOECは32000mg/lとなった（図3）。また、発芽管長に対する4d-LOECは320mg/lが得られた。以上で得られた4d-LOEC値は、消毒下水処理水や製紙工場排水中の ClO_3^- 濃度の数倍～数万倍以上高い値であることから、短期間（4日間）の暴露では ClO_3^- がスサビノリ殻胞子およびワカメ遊走子の発芽と生長に影響を及ぼすことはないといえる。

3.2 長期間暴露における ClO_3^- の生育阻害濃度

流水式培養による ClO_3^- 濃度とスサビノリ葉状体の面積増加率の関係を図4に示す。7日間暴露後の葉状体は、 ClO_3^- 濃度0～10mg/lにおいて面積が初期値の約1.5倍に増加したが、100mg/lにおいては色素の脱色や周縁部の流出（葉状体面積の減少）が認められ、7d-LOECは100mg/lが得られた。また、14日後では、 ClO_3^- 濃度1mg/l以上で葉状体の脱色・流出が認められ、14d-LOECは1mg/lが得られた。これに対して、ワカメ葉状体では、7日後と14日後ともに0～10mg/lにおいて面積増加率が一定となり、100mg/lで低下した（7dおよび14d-LOECとともに100mg/l、図5）。また、アオサ葉状体は生長速度が速いため、低濃度における生育阻害影響が明確に現れ、7d-LOECと14d-LOECはともに1mg/lが得られた（図6）。以上の結果から、スサビノリとアオサ葉状体においては、長期間（14日間）の連続暴露によって、短期間（4日間）暴露の約1/3～1/10000の ClO_3^- 濃度レベルで生育阻害が生じることが明らかとなった。また、褐藻*Fucus vesiculosus*の生育を阻害する ClO_3^- 濃度は約0.02mg/l¹⁴⁾という極めて低い値が報告されていることから、長期間暴露による影響についてはさらに詳細な検討を行う必要がある。

4. まとめ

海藻に対する ClO_3^- の生育阻害濃度について以下の知見を得た。（1）止水式暴露によるスサビノリ殻胞子の発芽率と生長率に対する4d-LOECは10000mg/lと1000mg/l、ワカメ遊走子の発芽率と発芽管長に対する4d-LOECは32000mg/lと320mg/lが得られ、短期間（4日間）では ClO_3^- の生育阻害影響は小さい。（2）流水式連続暴露による葉状体の面積増加率に対する7dおよび14d-LOECは、スサビノリが100mg/lと1mg/l、ワカメがともに100mg/l、アオサがともに1mg/lとなり、スサビノリとアオサ葉状体は長期間（14日間）の暴露によって、短期間（4日間）暴露の約1/3～1/10000の ClO_3^- 濃度レベルで生育阻害が生じることが明らかとなった。

参考文献

- 1) 高見ら (1998) 水環境学会誌, 21, 711-718.
- 2) 高見ら (2000) 土木学会年次講演会概要集VII, 292-293.
- 3) Lindvall, B. (1984) *Ophelia Suppl.*, 3, 147-50.
- 4) Rosemarin, A. et al. (1994) *Environmental Pollution*, 85, 3-13.

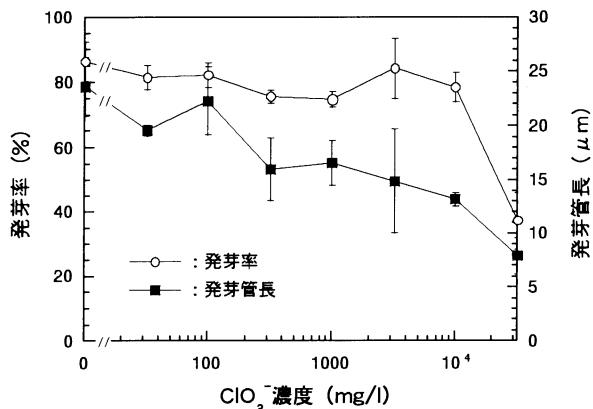


図3 止水式4日間暴露によるワカメ遊走子の発芽率および発芽管長に及ぼす ClO_3^- の影響。

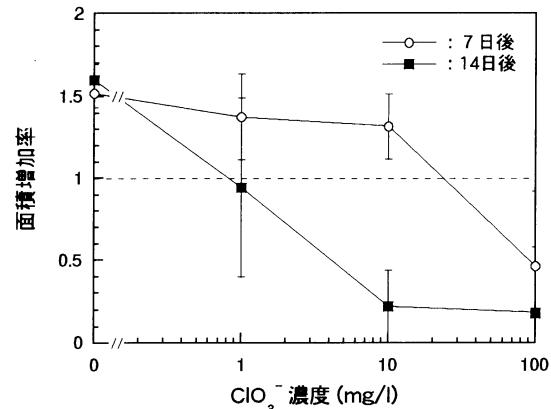


図4 流水式連続暴露によるスサビノリ葉状体の面積増加率に及ぼす ClO_3^- の影響（点線は初期値）。

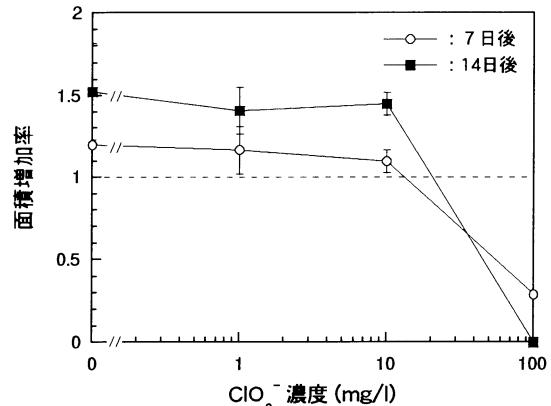


図5 流水式連続暴露によるワカメ葉状体の面積増加率に及ぼす ClO_3^- の影響（点線は初期値）。

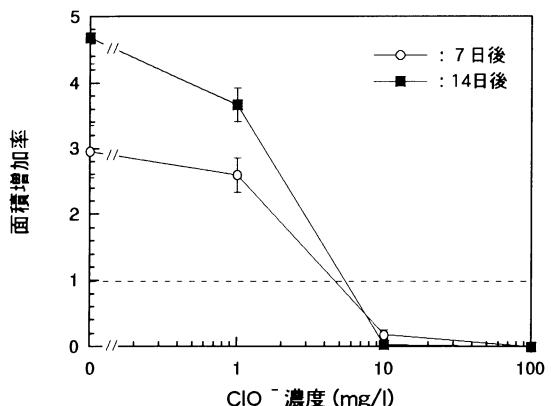


図6 流水式連続暴露によるアオサ葉状体の面積増加率に及ぼす ClO_3^- の影響（点線は初期値）。