

マイクロコズムにおける金属負荷の生態系機能・構造に及ぼすリスク評価

千葉工業大学・生命環境 ○村上和仁
 福島大学・共生理工 稲森悠平
 相模女子大学・栄養科学 杉浦 桂

1. はじめに

金属は人間活動に欠かせない材料である一方で、水俣病やイタイイタイ病など、水環境が汚染されてしまうと深刻な健康被害を及ぼしてしまう。各種の金属については水質環境基準が設けられ、各種排水などにも規制がかけられているが、金属類の生態リスクについては十分な知見が得られていないのが現状であり、個々の生物種に対する毒性リスク評価ではなく複雑な生物間相互作用を有する生態系システムに対する生態リスクを評価する上では、生産者・消費者・分解者からなるモデル微生物生態系であるマイクロコズムが有用なツールとなり得る。

本研究では、金属類の生態リスク影響評価に供するための基礎的知見の集積を目的として、 Ni^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} および Zn^{2+} の添加（負荷）がマイクロコズム生態系のP/R比の推移に如何なる影響を及ぼすかについて、機能パラメータと構造パラメータから検討をおこなった。

2. 方 法

2.1 供試マイクロコズム

分解者として4種の細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter* sp.、coryneform bacteria、生産者として2種の緑藻類 *Chlorella* sp.、*Scenedesmus* sp.、1種の糸状藻類 *Tolypothrix* sp.、捕食者として1種の原生動物繊毛虫類 *Cyclidium glaucoma*、2種の後生動物輪虫類 *Lecane* sp.、*Philodina erythrophthalma*、1種の後生動物貧毛類 *Aelosoma hemprichi*の組合せからなるGnotobiotic型マイクロコズム（栗原タイプ）を用いた。なお、このマイクロコズムは高い安定性と再現性を有するモデル微生物生態系であり、定常期に達した培養液を種として新たな培地に植継ぐと繰り返し同様な増殖曲線が得られる³⁾。

2.2 金属負荷

Ni^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} および Zn^{2+} を対象とした。添加量（負荷量）は、0（対照系）mg/lから段階的に設定し、マイクロコズム培養開始後16日目の安定期に添加した。

2.3 培養方法及び測定項目

マイクロコズムの培養は、ポリペプトン濃度を100mg/lとなるよう調整したTP培地（Taub+polypeptone）200mlを300ml容三角フラスコに入れ、2ヶ月間継代培養しているマイクロコズムを種として5ml接種した後、25℃、2,800lux（明12hr/暗12hr）、静置条件とした。DOセンサーによりマイクロコズム内のDO変化を経時的に連続測定し、P（生産量）、R（呼吸量）およびP/R比の推移を求めた。同時に、培養開始後、0、2、4、7、14、16、18、20、23、30日目にマイクロコズム構成微生物の個体数を計測した。

2.4 影響評価方法

金属イオンがマイクロコズム生態系に及ぼす影響について、機能パラメータ（P/R比）と構造パラメータ（生物個体数）の両面から評価することとし、①P/R比からの評価：添加後14日間のP/R比の挙動パターンを対照系（非添加系）と比較して評価、②添加後の挙動パターンからの評価：添加後14日間の各構成微生物の挙動パターンを対照系（非添加系）と比較して評価、③安定期の個体数（ N_{30} ）からの評価：培養開始後30日目（添加後14日目）における各構成微生物の個体数を対照系（非添加系）と比較して評価、および④添加後の現存量（ B_{16-30} ）からの評価：添加後14日間の各構成微生物の現存量（面積個体数密度）を対照系（非添加系）と比較して評価、から解析評価することとした。

キーワード： マイクロコズム 金属類 生態リスク評価 機能パラメータ 構造パラメータ

〒275-8588 千葉県習志野市津田 2-17-1 千葉工業大学生命環境科学科 TEL 047-478-0455 FAX 047-478-0474

3. 結果および考察

3.1 機能パラメータからみた各種金属の生態リスク評価

機能パラメータとして P/R 比に着目し、マイクロコズム培養開始後 16 日目の安定期に各金属イオンを添加後、14 日間の P/R 比の挙動パターンを対照系（非添加系）と比較して、金属の生態リスク影響を評価した。その結果、各金属のマイクロコズム無影響濃度（m-NOEC）は、 Ni^{2+} : 0.1~1.0mg/l、 Mn^{2+} : 0.1mg/l、 Mg^{2+} : 10mg/l、 Ca^{2+} : 5.0mg/l、 Al^{3+} : 0.3mg/l、 Cd^{2+} : 0.64mg/l、 Cu^{2+} : 1.0mg/l、 Zn^{2+} : 4.8mg/l と見積もられた。いずれの金属も、P/R 比からみると呼吸量過多（ $\text{P/R} < 1$ ）となる傾向を示したが、生産量と呼吸量を個別にみると、①呼吸量（R）が変化せずに生産量（P）が減少するタイプ（ Ca^{2+} 、 Cu^{2+} ）と、②生産量（P）が変化せずに呼吸量（R）が増大するタイプ（ Ni^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} ）に区分された。このように、同じ価数の金属イオンであっても種類によって生態系機能に及ぼす影響が異なることが示された。

3.2 構造パラメータからみた各種金属の生態リスク評価

構造パラメータとして生物個体数に着目し、①添加後の挙動パターンからの評価、②安定期の個体数（ N_{30} ）からの評価、③添加後の現存量（ B_{16-30} ）からの評価により生態リスクを評価した。いずれの評価法においても、対照系に比べて個体数が増加している生物群と減少している生物群に区分され、ほとんどの場合において、生産者である微細藻類（*Chlorella* sp.、*Scenedesmus* sp.、*Tolypothrix* sp.）の個体数が増加し、消費者である微小動物（*Cyclidium glaucoma*、*Lecane* sp.、*Phirodina erythrophthalma*、*Aeolosoma hemprichi*）の個体数が減少する傾向を示した。 Ca^{2+} 添加系においては、生産者である微細藻類でも減少する種（*Chlorella* sp.、*Scenedesmus* sp.）が観察されたが、これは、 Ca^{2+} 添加による水中のリンの吸着除去に加えて、pH の急激な上昇による微小動物（特に水生ミミズ *A.hemprichi*）の増殖阻害や白濁による微細藻類の光合成阻害といった影響が生じたものと考えられた。

3.3 生態リスク評価におけるマイクロコズムシステムの有効性

従来の単種生物試験と比較して複数種共存系であるマイクロコズム試験の利点は、生態系回復過程の評価が可能になるという点である。例えば、P/R 比の推移から、①系の維持（P/R 比が変化しない）、②系の回復（P/R 比に変化が生じるが、元に回復する）、③系の転移（P/R 比に変化が生じ回復するが、元とは異なる振幅をする）、④系の崩壊（P/R 比に変化が生じ回復しない）、を誘引する影響濃度を生態リスクとして評価することができる。また、同一の評価対象物質での無影響濃度の精度（バラツキ）を比較すると、単種生物試験 > マイクロコズム試験となり、得られるリスクは同程度である場合、バラツキの小さいマイクロコズムでの高精度な生態リスク評価が重要となる。

4. まとめ

- 1) マイクロコズム試験による生態無影響濃度（m-NOEC）は、 Ni^{2+} : 0.1~1.0mg/l、 Mn^{2+} : 0.1mg/l、 Mg^{2+} : 10mg/l、 Ca^{2+} : 5.0mg/l、 Al^{3+} : 0.3mg/l、 Cd^{2+} : 0.64mg/l、 Cu^{2+} : 1.0mg/l、 Zn^{2+} : 4.8mg/l と見積もられた。
- 2) 金属負荷の影響としては、P/R 比からみると呼吸量過多（ $\text{P/R} < 1$ ）となる傾向を示したが、呼吸量（R）が変化せずに生産量（P）が減少するタイプと、生産量（P）が変化せずに呼吸量（R）が増大するタイプに区分され、同じ価数の金属イオンであっても種類によって生態系機能に及ぼす影響が異なることが示された。
- 3) 金属負荷を与えると、対照系に比べて個体数が増加している生物群と減少している生物群に区分され、ほとんどの場合において、生産者である微細藻類の個体数が増加し、消費者である微小動物の個体数が減少する傾向を示した。
- 4) マイクロコズムを活用した P/R 比からの生態リスク評価は、生態系の回復過程のリスク評価が可能になるなど、有効な手段となることが示された。

追 記 : 本研究は、環境省平成 21~23 年度環境研究総合推進費課題「(S2-09) マイクロコズムを用いた生態系リスク影響評価システム手法の開発」の一環として実施された。

参考文献

- 1) 村上和仁: マイクロコズムシステムによる P/R 比からみた金属類の生態リスク評価、環境情報科学論文集、24 巻、pp.399-404 (2010.11.)
- 2) K.Kakazu, K.Murakami, K.Sugiura, R.Inamori, Y.Inamori : Development of Ecosystem Risk Impact Assessment System Methods using Microcosm Systems, 中国環境科学学会水環境部会 2010 中国水環境汚染抑制修復技術高級検討会、南昌（中国）(2010.11.)