数理モデル・培養モデルのハイブリットシステム（*i*EIRAS）による金属複合添加の影響評価

千葉工業大学　生命環境　学員　○島田太智
千葉工業大学院　生命環境　学員　林　秀明
千葉工業大学　生命環境　正員　村上和仁
相模女子大学　栄養科学　杉浦　桂

1. はじめに

生態系に深刻な影響を及ぼす物質として金属などの化学物質が挙げられる。これらの化学物質の生態系に及ぼす影響を調査する際に、模擬生態系であるマイクロコズムを用いることが有効であり、検討事例も報告されている。本研究では N88BASIC による数理モデル（杉浦モデル）とフラスコサイズの培養系である水圏モデル生態系マイクロコズム（栗原タイプ）を組み合わせた *i*EIRAS（integrated Environmental Impact Risk Assessment System：生態環境リスク評価システム）用いて、金属の複合添加における生態系への影響予測について検討した。

2. 実験方法

2.1 マイクロコズム

マイクロコズムとは、消費者（*Cyclidium glaucoma, Lecane* sp., *Philodina* sp., *Aeolosoma hemprichi*）・生産者（*Chlorella* sp., *Tolypothrix* sp., *Scenedesmus* sp.）・分解者（*Bacillus cereus, Pseudomonas putida, Acinetobacter* sp., *Coryneforme bacteria*）で構成された水圏生態系モデルである。構成種既知であり生態系機能の基本的要素を含んでいるため、高い再現性がある。培養開始後、光合成により DO 値が増減し、約 16 日目で DO 値が安定する。評価方法として機能パラメータ（DO 値）があり、安定期に対象物質を添加した際の DO 値の経時変化を対照系と比較することによって対象物質が生態系システムに与える影響を評価することができる。

2.2　マイクロコズムの条件

本実験に用いたマイクロコズムの条件は、TP 培地（Taub+ペプトン）に上記の生物種のみを継代培養した対照系マイクロコズムの種を添加し、温度 25℃、照度 2,500Lux（明 12h 暗 12h）で静置状態で 30 日間培養を行った。16 日目から生態系が安定期に入り、マイクロコズム内部の DO が安定する。安定期のマイクロコズムに化学物質を添加することで DO の変動を調査した。添加を行った系と無添加である対照系の DO の変動を調査・比較することで添加された物質が生態系システムに及ぼす影響を調査できる。今回添加を行った物質は Co と Ni の 2 種類の金属であり、これらの NOEC（環境無影響濃度）における混合添加の影響を調査し、添加後の前半期と後半期における経時変化について注目した。

2.3 数理モデル

本実験に用いた数理モデルは杉浦がN88BASICを用い開発した数理モデルである。これは生物間相互作用、代謝産物を考慮されたモデルである。計算は以下のようにして行われる。

$$d(CO_2)/dt = k_1(O_2)\times(MB)\times(C)+k_2((DCO)-(CO_2))/(DCO)-k_8(CO_2)\times(C)$$

$$d(MC)/dt = k_6\times(O_2)\times(MB)\times(C)+k_{10}\times(CO_2)\times(C)$$

$$d(O_2)/dt = k_{11}\times(CO_2)\times(C)+k_1((DO)-(O_2))/(DO)-k_4\times(O_2)\times(MB)\times(C)$$

$$d(C)/dt = k_5\times(O_2)\times(MB)\times(C)+k_9\times(CO_2)\times(C)-k_{12}\times(C)$$

$$d(MB)/dt = -k_3\times(O_2)\times(MB)(C)$$

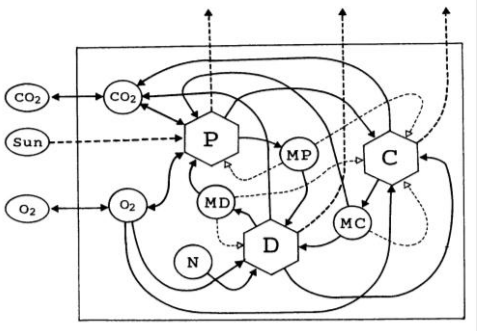


図 1　生産者、消費者、分解者の関係図

ここで、k_1:酸素の気液平衡 k_2:二酸化炭素の気液平衡 k_3:バクテリアの代謝産物 k_4:*Chlorella* が必要とする酸素 k_5:*Chlirella* の呼吸量 k_6:*Chlorella* の代謝産物 k_7:*Chlorella* の呼吸量 k_8:光合成による二酸化炭素の吸収（明 12 h）k_9:*Chlorella* の比増殖速度 k_{10}:*Chlorella* が増殖する際必要となる代謝産物 k_{11}:*Chlorella* が増殖する際必要となる二酸化炭素 k_{12}:*Chlorella* の死滅量（現存量に比例）となる。図 1 に消費者、生産者、分解者の関係図を示す。

キーワード：マイクロコズム　数理生態系モデル　シミュレーション　DO　複合金属負荷

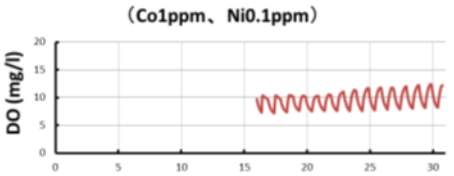
〒275-8588 千葉県習志野市津田沼 2-17-1（千葉工業大学 生命環境科学科）TEL：047-478-0455　FAX：047-478-0455

2. 4 パラメータの決定

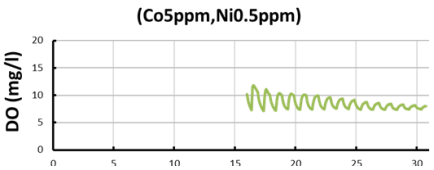
消費者（*Cyclidium, Philodina*）、生産者（*Chlorella*）、分解者（*Bacteria*）の比増殖速度は杉浦の文献値よりそれぞれ 0.0024、0.016、0.686、2.000（day^{-1}）とした。このプログラムは比増殖速度の係数を変化させることが可能であるため、対照系の比増殖速度係数を 1 として測定を行い、係数を変更させてシミュレーションを行った。

3. 結果及び考察

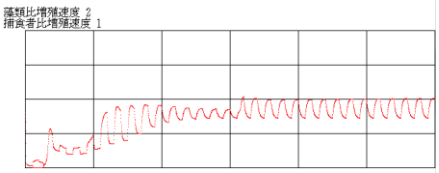
Co1ppm+Ni0.1ppm 添加による DO の変動を記録したものがグラフ 1、Co5ppm+Ni0.5ppm 添加による DO の変動を記録したものがグラフ 2 である。前者の添加量はそれぞれの金属の NOEC であるが、複合した場合に変動がみられた。前者の前半と後半に対応するシミュレーションがそれぞれグラフ 3 とグラフ 4 である。後者の前半と後半にそれぞれ対応するシミュレーションがグラフ 5 と 6 である。

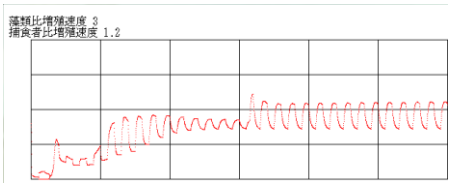


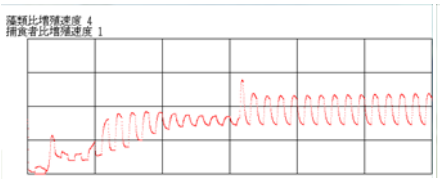
グラフ 1　NOEC 添加系（培養モデル）

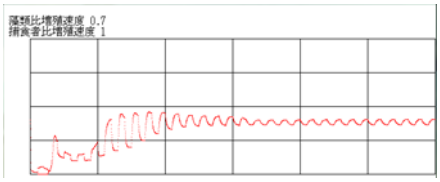


グラフ 2　高濃度添加系（培養モデル）


グラフ 3　NOEC 前半期シミュレーション


グラフ 4　NOEC 後半期シミュレーション


グラフ 5　高濃度前半期シミュレーション


グラフ 6　高濃度後半期シミュレーション

NOEC 添加系では後半に DO の上昇、高濃度添加系では後半に DO の減少がみられた。これらをシミュレーションで再現した結果、NOEC 添加系では前半に生産者の比増殖速度が 2 倍になり、消費者の比増殖速度に変化はみられなかった。後半では生産者の比増殖速度が 3 倍、消費者の比増殖速度が 1.2 倍となった。高濃度添加系では前半に生産者の比増殖速度が 4 倍になり、消費者の比増殖速度に変化は見られなかった。後半では、生産者の比増殖速度が 0.7 倍になり、消費者の比増殖速度に変化はみられなかった。

以上より、複合添加の場合、NOEC 濃度でも影響が現れること、比増殖速度において生産者に強く影響を及ぼすことがわかった。NOEC 添加系では系の平衡能により活性が上昇し、金属負荷に抵抗したものと考えられる。物質循環中に耐性を持つ個体の発生、金属の変化、消費により、後半では通常の値に近くなったものと考えられる。高濃度添加系では、添加直後は活性を上昇させたが系を維持できず、そのため後半では生産者の比増殖速度は低下したものと考えられる。

4. まとめ

1）NOEC 濃度の Co と Ni を複合負荷すると生態系環境に影響を及ぼすことが示された。

2）時間経過とともに、NOEC 濃度添加では活性の上昇、高濃度添加では活性の低下がみられた。

3）Co と Ni の複合添加が及ぼす影響の強さは、生産機能＞消費機能である。

4）培養モデルによる個体数測定、DO 測定だけでは系内部の生産・消費機能の解析は難しいが、数理モデルと併用することでこれらの情報を得ることが可能である。

追記：本研究は、日本学術振興会平成 24～26 年度科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）（挑戦的萌芽研究）「（課題番号 24651029）移入生物がもたらす生態系影響評価のためのモデルエコシステムの汎用化に関する研究」、「平成 24 年度日本化学工業協会真 LRI（2012PT4-02）「マイクロコズムを活用した化学物質の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。