

マイクロコズム WET 試験による腐敗アオサの生態系影響評価

千葉工業大学 生命科学科 学員 ○岩瀬郁実
 千葉工業大学 生命科学科 正員 村上和仁

1. 目的

近年、谷津干潟では、異常繁茂したアオサ (*Ulva* spp.) が夏季に腐敗し堆積している。腐敗アオサの堆積により、干潟および周辺環境に水質汚濁や異臭などの問題が生じている。また、腐敗したアオサに覆われた土壌は嫌気化しており、干潟生態系を支える重要な生物であるマクロベントスに影響を及ぼしていると考えられているが、その影響評価は行われていない。本研究では、腐敗したアオサの溶出液は水圏生態系に如何なる影響を及ぼすかについて、マイクロコズム WET 試験によるエコシステムレベルでの影響評価解析を試みた。

2. 方法

2.1 マイクロコズム

マイクロコズムとは、生態系における物理、化学、生物的要因とそれらの相互作用の一部を包含しており、現場現象をエコシステムレベルで解析できる模擬生態系である。本研究で用いた Gnotobiotic 型マイクロコズムは生産者 (緑藻類: *Chlorella* sp., *Scenedesmus quadricauda*、糸状藻類: *Tolypothrix* sp.)、消費者 (貧毛類: *Aeolosoma hemprichi*、輪虫類: *Philodina erythrophthalma*, *Lecane* sp., 繊毛虫類 *Cyclidium glaucoma*)、分解者 (優占細菌類: *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter* sp., *Coryneform bacteria*) から構成されており、目的に応じて培養条件の実験操作が可能であり、再現性が高く、環境の影響評価に適している (図 1)。

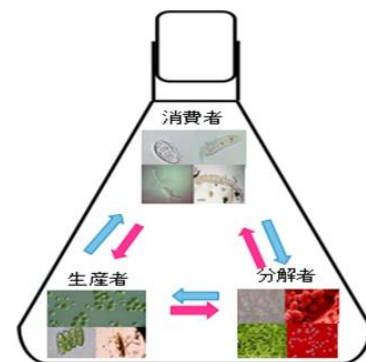


図1 マイクロコズムのイメージ

2.2 培養方法

300mL フラスコに TP 培地 (Taub+Pepton 培地) 200mL とマイクロコズムの種 10mL を添加し、温度 25℃、照度 2,400lux、明暗周期 12 時間で 30 日間静置培養を行った。

2.3 添加物質

谷津干潟より採取したアオサを純水で軽く洗浄し、Hale の人工海水を 1L 加えた 30cm アクリル水槽に入れ、インキュベータにてアオサを 30℃、2,400lux の条件下で 1 週間培養し腐敗アオサ溶出液を作成した (表 1)。人工海水と作成した腐敗アオサ溶出液の水質を測った (表 2、表 3)。また、採取したアオサは 281.1g であった。

2.4 マイクロコズム WET 試験

マイクロコズム内の生物量が安定する培養開始 16 日目に、口径 0.45 μm メンブレンフィルターを用いて吸引ろ過した腐敗アオサ

溶出液を、マイクロコズムに対して 5、10、20、40、80% となるように TP₂ 培地で希釈し添加した。添加の際には、マイクロコズムを 1,500rpm×5min で遠心分離し、上澄みを採取して生物量を調整した。

2.5 評価方法

顕微鏡観察によるプランクトン個体数 (構造パラメータ) と DO 計測 (機能パラメータ) とした。顕微鏡観察は培養開始から 0、2、4、7、14、16、18、20、23、30 日目に行った。DO は 16 日目の農薬添加後から 30 日目まで連続的に測定し、生産量 (P) と消費量 (R) より P/R 比を算出し、枝分かれ型分散分析にて評価した。マイクロコズム内の DO を蛍光式 DO 計により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 (機能パラメータ) を求めた。培養終了後、機能パラメータについて枝分かれ型分散分析 (branched type ANOVA) にて影響解析した。機能・構造パラメータにおいて、b-ANOVA で影響なしと評価された最も高い濃度をマイクロコズム最大無影響濃度 (m-NOEC) とし、底質溶出水の希釈倍率である毒性単位 (TU) を以下の式より算出した。

$$\text{毒性単位 (TU)} = 100 / \text{m-NOEC} \quad (= \text{希釈倍率})$$

なお、先行研究より m-NOEC をアセスメント係数 200 で除することで、実際の生態系を保護可能であることが示されている。

表 1 Hale の人工海水 (g/L)

塩化ナトリウム (NaCl)	23.990
塩化カリウム (KCl)	0.720
塩化カルシウム (CaCl)	1.135
塩化マグネシウム (MgCl)	5.102
塩化ストロンチウム (SrCl)	0.011
硫酸ナトリウム (Na ₂ SO ₄)	4.012
過ホウ酸 (H ₃ BO ₂)	0.027
炭酸水素ナトリウム (NaHCO ₃)	0.197
臭化ナトリウム (NaBr)	0.085

表 2 Hale の人工海水

pH	9.2
Cl ⁻ (mg/L)	4183
NO ₂ -N (mg/L)	0.0024
NO ₃ -N (mg/L)	1.8
NH ₄ -N (mg/L)	0.5
T-N (mg/L)	2.5
PO ₄ -P (mg/L)	0.07
T-P (mg/L)	0.138
COD (mg/L)	0

表 3 腐敗アオサ溶出液の水質

pH	9.2
Cl ⁻ (mg/L)	4183
NO ₂ -N (mg/L)	5.0
NO ₃ -N (mg/L)	2.8
NH ₄ -N (mg/L)	144.6
T-N (mg/L)	25.8
PO ₄ -P (mg/L)	7.11
T-P (mg/L)	0.053
COD (mg/L)	38.8

キーワード: マイクロコズム WET 試験 アオサ 生態系影響評価 m-NOEC

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

3. 結果および考察

3.1 構造パラメータによる評価

プランクトン観察より、腐敗アオサ溶出液添加後、原生動物 *Cyclidium*（一次消費者）に影響が生じ、20%以上では微小後生動物 *Lecane*, *Philodina*, *Aeolosoma*（高次消費者）が死滅した（図2）。

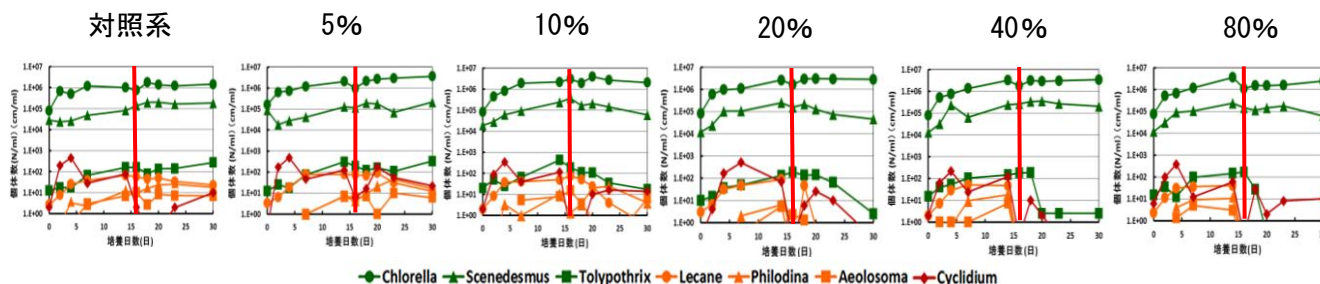


図2 各添加系の微生物個体数（構造パラメータ）の経時変化

3.2 機能パラメータによる評価

各添加濃度における DO の経時変化より、添加濃度が高くなるにつれてグラフの振幅が大きくなった（図3）。P/R 比とはマイクロコズム内の酸素の生産と消費の比を表したものであり、マイクロコズムの P/R 比は自然生態系と同様の 1 となる性質を有する。対照系は 1 付近で安定していた。5%以上の添加系で波形が大きく乱れたため、生態系としての機能は安定していないと考えられた（図4）。

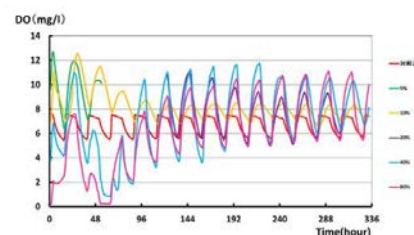


図3 各添加濃度における DO の経時変化

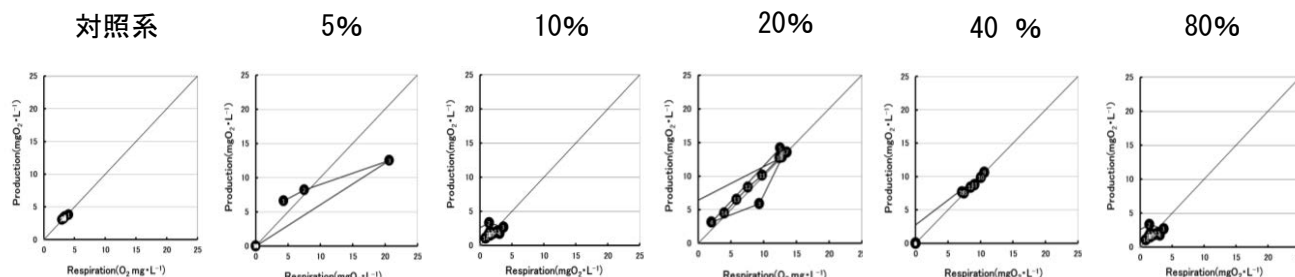


図4 各添加系の微生物個体数（構造パラメータ）の経時変化

3.3 枝分かれ型分散分析による評価

枝分かれ型分散分析とは、フラスコ間差を確率変数とみなした分散分析のことである。添加系や対照系を振り分け、時間を含めた実験条件を考慮した検定方法である。すべての値の平均による分散分析を群といい、時間ごとの分散分析を交互作用という。

枝分かれ型分散分析より、すべての添加濃度の消費量と生産量の交互作用で影響ありと評価された。そのため腐敗アオサ溶出液の m-NOEC は 5%と評価された。

4. まとめ

- 1) 腐敗アオサ溶出液の COD、T-N、T-P、pH は、それぞれ 38.8mg/L、35.0mg/L、25.8mg/L、18 であった。
- 2) 構造パラメータ（個体数）からの解析では、10%から 80%の添加でプランクトン個体数の増減が生じた。
- 3) 機能パラメータ（DO、P/R 比）からの解析では、対照系では P/R 比は 1 付近で安定していたが、添加濃度が高くなるほど DO の振幅に変化が生じた。
- 4) 枝分かれ型分散分析により有意差検定を行い、影響の有無を判定した結果、m-NOEC は 5%、TU は 0.05 となり、アオサの腐敗溶出液は水圏生態系に影響を及ぼしていると評価された。
- 5) 今後、カルシア材などの底質改善材の活用による腐敗アオサ溶出液の影響低減を展開していく予定である。

参考文献

- 1) 土屋友美, 村上和仁: マイクロコズムを活用したエコシステムレベルでの全排水毒性試験法の開発, 環境情報科学学術研究論文集, 33, 31-36. 2019
- 2) 工藤教勇, 児島真史, 徳永貴久, 松永信博: 干潟におけるアオサの消長が生物生息環境に及ぼす影響, 海岸工学論文集 50, 1081-1085, 2003, (j-stage), https://www.jstage.jst.go.jp/article/proce1989/50/0/50_0_1081/_article-char/ja (参照 2021-07-23)