

マイクロコズム WET 試験法による谷津干潟底泥溶出水の生態系影響評価

千葉工業大学 生命科学科 学員 ○佐藤颯介
千葉工業大学 生命科学科 正員 村上和仁

1. 目的

千葉県習志野市に位置する人工的自然干潟である谷津干潟では、夏季に異常繁茂したアオサが腐敗することで底泥が嫌気化し、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。しかし、腐敗底泥からの溶出水が生態系機能に及ぼす具体的な影響は未知数である。そこで本研究では模擬生態系であるマイクロコズムを用いた WET 試験により谷津干潟底泥溶出水の生態系影響についてエコシステムレベルで評価解析することを目的とした。

2. 方法

2.1 培養方法

マイクロコズムとは制御された条件下で生産者、捕食者、分解者を含む、模擬生態系のことである。環境条件などの実験操作が可能であり、生物群集の成り立ちや関係などを明らかにすることができる。またフラスコスケールでの培養であるため、低コストかつ高い再現性と安定性を有している。図1にマイクロコズムの概念図を示す。

本研究では Gnotobiotic 型マイクロコズム (N-system) を用いた。300ml 三角フラスコに TP 培地 (Taub+ペプトン培地) を 200ml 注いだ。継代培養されている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 12hrs) の条件下で 30 日間の静置培養を行った。

本研究で用いた Gnotobiotic 型マイクロコズムは構成生物全てが既知であり、生産者として 2 種の緑藻類 *Chlorella* sp.、*Scenedesmus quadricauda*、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*、分解者として 4 種の優占細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter* sp.、*Coryneform bacteria* にて構成されている。

2.2 谷津干潟底泥溶出水

本研究では、環境省：底質調査方法に準じ、試験原液を作成した。腐敗アオサにより嫌気化した谷津干潟底泥を供試底泥 (図2) とし、2mm 目のふるいを通し、溶媒 (Hale の人工海水 (表1)) との比率を 1:10 とし、毎分約 200 回転で 6 時間攪拌した後に 30 分静置し抜き取った上澄み液を、さらに 24 時間静置して懸濁物沈降させ、試験原液とした。

2.3 添加方法

本研究では、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 0.45μm メンブレンフィルターを用いて谷津干潟底泥溶出水を吸引ろ過した後、マイクロコズムに対して試験原液が 0.6、1.25、2.5、5、10、20、40、80% となるように TP₂ 培地で希釈し添加した (図3)。添加の際、マイクロコズムを遠心管に移し 1,500rpm で 5 分間の遠心分離を行い、マイクロピペットを用いて上澄みを除去し、生物量を調整した。

2.4 評価方法

個体数 (構造パラメータ) および DO (機能パラメータ) から評価を行った。個体数は光学顕微鏡を用いて、培養開始から 0、2、4、7、14、16、18、20、23、30 日目に同定、計測を行った。DO は培養 16 日目から 30 日目まで連続的に測定し、生産量 (P)、呼吸量 (R) から P/R 比を算出した。また機能パラメータの経時変化において、枝分かれ型分散分析を行った。枝分かれ型分散分析では各系の全ての値による分散分析である「群」と時間ごとの分散分析である「交互作用」の 2 項目から評価を行った。これらの結果による評価から最大無影響濃度 (m-NOEC) を算出し、以下の式より毒性単位 (TU) を算出した。

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

キーワード：マイクロコズム WET 試験 生態系影響評価 谷津干潟底泥溶出水 m-NOEC TU

連絡先：〒275-0016 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

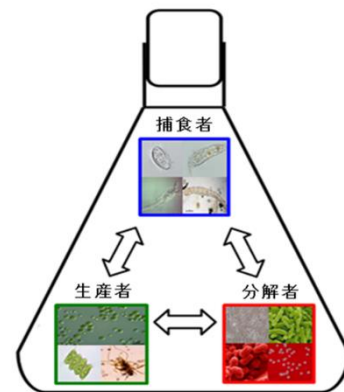


図1 マイクロコズムの概念図

表1 Hale の人工海水成分表 (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



図2 供試谷津干潟底泥

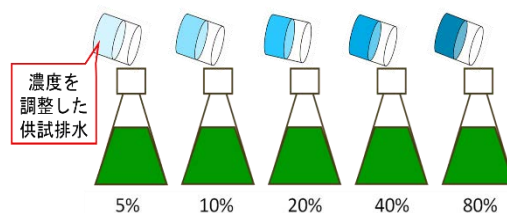


図3 マイクロコズム WET 試験の概念図

3. 結果および考察

3.1 試験原液の水質

谷津干潟底泥溶出水と人工海水の水質を表2に示す。鉄鋼スラグ溶出液では人工海水に比べて、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 T-N 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 T-P 、 COD で高い値を示した。

3.2 DO、P/R比（機能パラメータ）による評価

DOの振幅は5%から80%添加系において時間経過で低下し、20%から80%添加系では添加直後から大きく低下した。このことからマイクロコズム内の活性は低下していると考えられ、谷津干潟底泥から溶出した化学物質が動物プランクトンの生命活動を阻害していることが考えられた。

しかし、P/R比は全ての添加濃度において1付近で安定しており（図4）、これは植物プランクトン、動物プランクトンのいずれも活性が低下したためマイクロコズム内のP/R比のバランスが保たれたと考えられた。機能パラメータにおいて、P/R比・呼吸量・生産量について枝分かれ型分散分析による検定から影響の有無を判定した結果、m-NOECは0.3%未満、TUは166.7以上と推測された。

3.3 個体数（構造パラメータ）による評価

高濃度の添加系においてプランクトンの死滅を確認した（図5）。40、80%添加系では、捕食者である動物プランクトン4種が死滅し、20%添加系では、原生動物繊毛虫類 *Cyclidium glaucoma* 及び後生動物輪虫類 *Lecane* sp.のみ生存しているのを確認した。生産者である植物プランクトンにおいてはすべての添加系に影響が確認されたが10、20、40%添加系では、時間経過に伴い回復しているのを確認した。すべての添加系においてプランクトンの死滅または減少がみられることから、マイクロコズム内の生態系は維持されていないと考えられた。

4. まとめ

- 1) 谷津干潟底泥溶出水は、人工海水に比べて、各水質分析項目において高い数値を示した。
- 2) 機能パラメータにおいては、すべての添加系においてP/R比は安定していたが、活性が低下していた。
- 3) 構造パラメータにおいては、高濃度の添加系においてプランクトンの死滅または減少が確認され、マイクロコズム内の生態系は維持されていないと考えられた。
- 4) マイクロコズムWET試験の結果、谷津干潟底泥溶出水のm-NOECは0.6%未満、TUから166.7倍以上の希釈が必要と評価され、干潟生態系の基盤を構築する微生物生態系に大きな影響を及ぼしているものと考えられた。
- 5) 今後、人工海水のみを対象とした解析・評価から人工海水がマイクロコズムに与えている影響について検討し、谷津干潟底泥溶出水の影響を精査する必要がある。

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巻、pp31~36（2019.12）
- 2) Inamori, Y. ed: Microcosm Manual for Environmental Impact Risk Assessment: From Chemicals to Whole Effluent Toxicity (WET), Springer, New York (2019)

付記：本研究の一部は鉄鋼スラグ協会からの受託研究として実施したものである。

表2 谷津干潟底泥溶出水と人工海水の水質比較

谷津干潟底泥溶出水		人工海水	
pH	8.7	pH	9.2
Cl^- (mg/L)	3297	Cl^- (mg/L)	8863
$\text{NO}_2\text{-N}$ (mg/L)	0.0085	$\text{NO}_2\text{-N}$ (mg/L)	0.0038
$\text{NO}_3\text{-N}$ (mg/L)	1.5	$\text{NO}_3\text{-N}$ (mg/L)	0.4
$\text{NH}_4\text{-N}$ (mg/L)	0.02	$\text{NH}_4\text{-N}$ (mg/L)	0.02
T-N (mg/L)	0.8	T-N (mg/L)	0.7
$\text{PO}_4\text{-P}$ (mg/L)	0.047	$\text{PO}_4\text{-P}$ (mg/L)	0.018
T-P (mg/L)	0.053	T-P (mg/L)	0.028
COD (mg/L)	3.6	COD (mg/L)	1.2

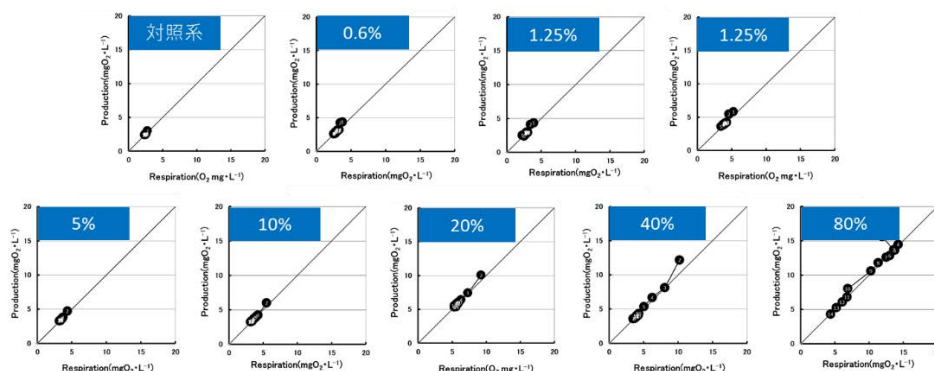


図4 各添加系のP/R比（機能パラメータ）の経時変化

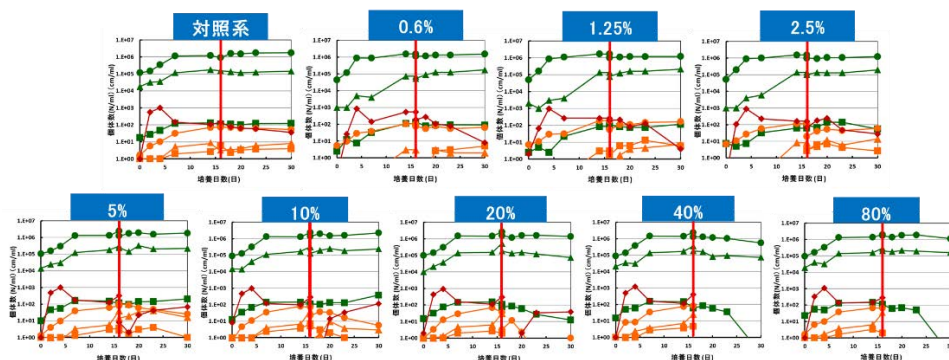


図5 各添加系の微生物個体数（構造パラメータ）の経時変化