

## マイクロコズム WET 試験による谷津干潟底泥間隙水の環境毒性評価

千葉工業大学 生命科学科 学員 ○大平和成  
 千葉工業大学 生命科学科 正員 村上和仁  
 NPO バイオエコ技術研究所 稲森隆平  
 NPO バイオエコ技術研究所 稲森悠平

## 1. 目的

近年、ラムサール条約登録湿地である谷津干潟では異常繁茂したアオサ (*Ulva* spp.) が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。加えて腐敗アオサの堆積による影響はアオサが腐敗する夏季のみであると限らず、干潟底泥中に残留し継続的に影響を与える可能性も考えられる。本研究では、谷津干潟アオサ腐敗底泥間隙水が水圏生態系に如何なる影響を及ぼすかについて、夏季と秋季の比較からマイクロコズム 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、自然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）。

## 2.2 培養方法

300mL フラスコに TP<sub>100</sub> 培地（Taub+Pepton100 mg/l 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 検水

夏季(2022/8)、秋季(2022/11)に谷津干潟バラ園前より採取したアオサ腐敗底泥を 2 mm 目のふるいを通し、アオサ腐敗底泥の質量と溶媒(TP<sub>2</sub>培地)の比率を 1 : 10 になるようにビーカーに入れ、スターラーにて毎分約 200 回転で 6 時間攪拌した後 30 分静置、その後上澄み液をさらに 24 時間静置しアオサ腐敗底泥間隙水を作成した後、水質分析を行った(表1)。

## 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アオサ底泥間隙水を、マイクロコズムに対して 5、10、20、40、80%となるように TP<sub>2</sub>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

評価項目は、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 日目のアオサ腐敗底泥間隙水添加後から 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。

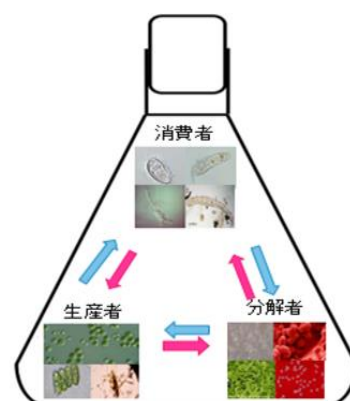


図1 マイクロコズムのイメージ

表1 アオサ腐敗底泥間隙水の水質

Cl <sup>-</sup> (mg/l)	15.36
NO <sub>2</sub> -N(mg/l)	0.001
NO <sub>3</sub> -N(mg/l)	1.0
NH <sub>4</sub> -N(mg/l)	0.96
T-N(mg/l)	—
T-P(mg/l)	2.57
PO <sub>4</sub> -P(mg/l)	0.32
COD(mg/l)	8.0

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

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、アオサ腐敗底泥間隙水添加後、捕食者の一時的な減少がみられた (図2、図3)。

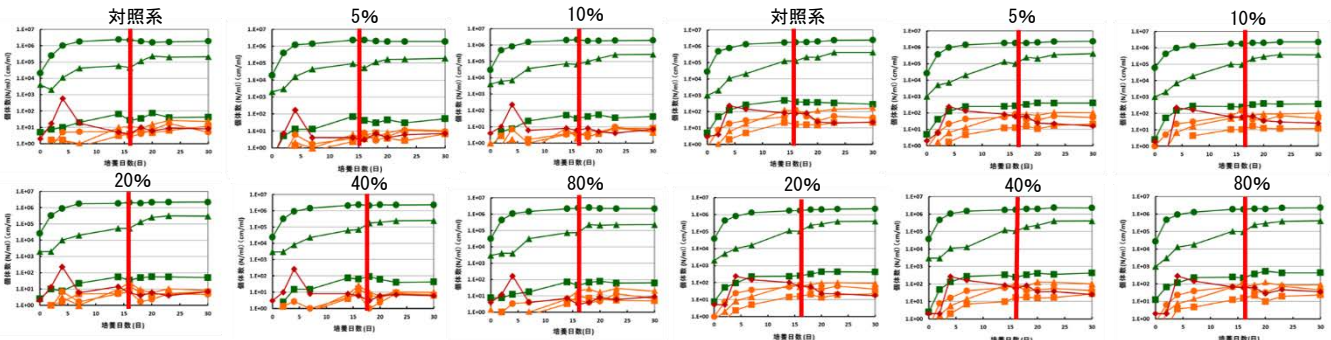


図2 各添加系の微生物個体数 (構造パラメータ) の経時変化 (夏季)

図3 各添加系の微生物個体数 (構造パラメータ) の経時変化 (秋季)

#### 3.2 機能パラメータによる評価

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。対照系と比べ高濃度添加系などで波形が乱れたが、1 付近で安定しているため生態系としての機能は保たれていると考えられた (図4、図5)。

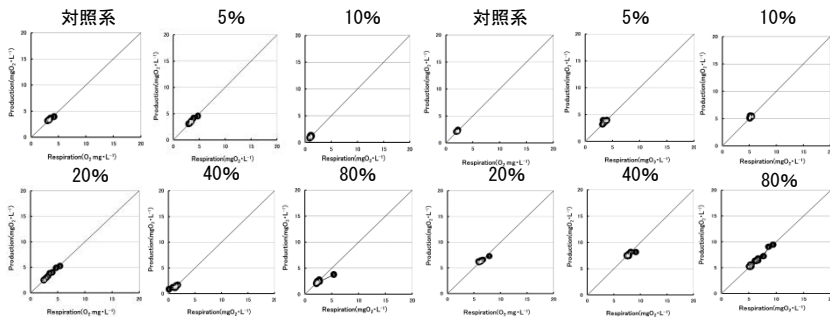


図4 各添加系の P/R 比の経時変化 (夏季)

図5 各添加系の P/R 比の経時変化 (秋季)

表2 枝分かれ型分散分析 (左:夏季) (右:秋季)

添加濃度	群	P/R比	消費量	生産量	評価	表2 枝分かれ型分散分析 (左:夏季) (右:秋季)					
						対照系	群	P/R比	消費量	生産量	評価
対照系	交互作用	0	0	0	0	対照系	群	0	0	0	0
	交互作用	0	0	0	0	対照系	交互作用	0	0	0	0
5%	群	0	0	0	0	5%	群	0	0	0	0
	交互作用	X	0	0	X	5%	交互作用	X	X	0	X
10%	群	0	0	0	0	10%	群	0	0	0	0
	交互作用	X	0	0	X	10%	交互作用	X	0	0	X
20%	群	0	0	0	0	20%	群	0	0	0	0
	交互作用	X	X	0	X	20%	交互作用	X	X	0	X
40%	群	0	0	0	0	40%	群	0	0	0	0
	交互作用	X	0	0	X	40%	交互作用	X	X	0	X
80%	群	0	0	0	0	80%	群	0	0	0	0
	交互作用	X	0	0	X	80%	交互作用	X	X	0	X

#### 3.3 枝分かれ型分散分析による有意差検定

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交互作用で影響ありと評価された (表2)。アオサ腐敗底泥間隙水の m-NOEC は 2.5% と評価された。生態系構造から生物の生存に影響はみられないが、枝分かれ型分散分析において交互作用に影響が生じていることから、系の経時変化に影響を及ぼしていると考えられ、系の活性が個体数の生存に影響しない範囲で低下していると考えられた。アオサが腐敗する夏季と同様に秋季も交互作用に影響が生じていることから腐敗アオサの堆積による影響が土壌に残留している可能性が考えられた。今後、干潟の環境悪化などにより生態系活性の低下が生物間相互作用で補える範囲を超えて影響を及ぼし、ベントスなどの減少によるシギ・チドリ類の飛来数低下などラムサール条約登録湿地である谷津干潟の生態系が危ぶまれる可能性が示唆された。

#### 4. まとめ

- 1) 構造パラメータ (個体数) からの解析では、捕食者の一時的な減少がみられた。
- 2) 機能パラメータ (P/R 比) からの解析では、対照系と比べ高濃度添加系などで波形が乱れたが、P/R 比は 1 付近で安定していた。
- 3) 枝分かれ型分散分析により影響の有無を判定した結果、m-NOEC は 2.5%、TU は 0.05 となり、アオサ腐敗底泥間隙水は水圏生態系に影響を及ぼしていると評価された。
- 4) 枝分かれ型分散分析より、アオサが腐敗する夏季と同様に秋季も同等の影響が生じていることから、腐敗アオサの堆積による影響が干潟底泥中に残留している可能性が考えられた。
- 5) 今後、干潟の環境悪化により生態系活性の低下が生物間相互作用で補える範囲を超えて影響を及ぼし、ベントスなどの減少によるシギ・チドリ類の飛来数低下など、ラムサール条約登録湿地である谷津干潟の生態系が危ぶまれる可能性が示唆された。

#### 参考文献

- 1) Inamori, Y. ed : Microcosm Manual for Environmental Impact Risk Assessment: From Chemicals to Whole Effluent Toxicity (WET), Springer, New York (2019)