

B-1 マイクロコズムを活用したP/R比による生態リスク評価システムの開発

○村上 和仁^{1*}・林 紀男²・稲森 隆平³・稲森 悠平³

¹千葉工業大学工学部生命環境科学科 (〒275-8588 千葉県習志野市津田沼2-17-1)

²千葉県立中央博物館生態学研究科 (〒260-8682 千葉市中央区青葉町 955-2)

³福島大学共生システム理工学類 (〒960-1296 福島県福島市金谷川1番地)

* E-mail: kaz_murakami@sky.it-chiba.ac.jp

1. はじめに

水処理における処理水の水質基準を定める上では、処理水に含有される微量物質が放流先の水圏生態系に如何なる影響を及ぼすのかを考慮することが重要である。水圏生態系は、生産者（藻類）、捕食者（微小動物）、分解者（細菌類）を主とする微生物ループを基盤として魚類等の高次捕食者を含む食物網すなわち生物間相互作用から構成されており、水圏生態系の水質浄化や物質循環には特に微生物ループが重要な役割を担っている。この微生物ループは、生産者としての藻類、消費者としての繊毛虫類・輪虫類・貧毛類等の微小動物、分解者としての細菌類等から構成され、化学物質の負荷による生態系への影響を評価する上では、生産 (production:P) /呼吸 (respiration:R) 比のような生態系における汎用性の高い変動パラメータを考慮することが重要であり、したがって、環境変動と微生物・高次捕食者の水圏生態系の構成生物群との関係解析による生態系リスク管理手法の確立が重要な課題となる。

生態系システムに対するリスク影響評価解析においては、マイクロコズム (安定モデル生態系) を用いた微生物群集の動態解析を相補的に活用することが有効・効果的である。単一生物を活用した毒性評価・影響評価に関する研究は、従来より行われてきたが、多種の生物を活用した生態系リスク評価研究はなされていないのが現状であり、マイクロコズムを活用した生態学的研究 (エコシステムレベルでの環境影響評価) は、国際化が重視されており、OECD試験法の検討においても、生態系システム評価の重要性が指摘されている。

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、Mn²⁺、Mg²⁺、Ca²⁺の添加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検討をおこなった。

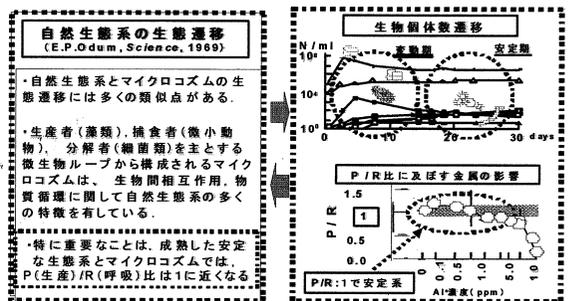


図1 自然生態系とマイクロコズムのP/R比等の相似性

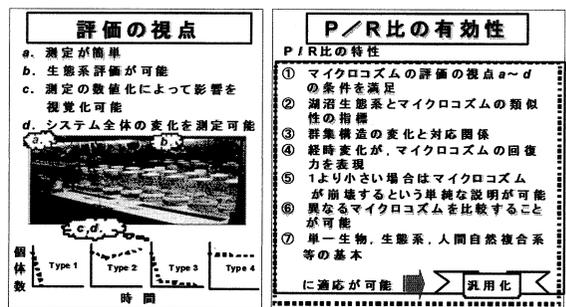


図2 マイクロコズムにおけるP/R比評価法の適用化

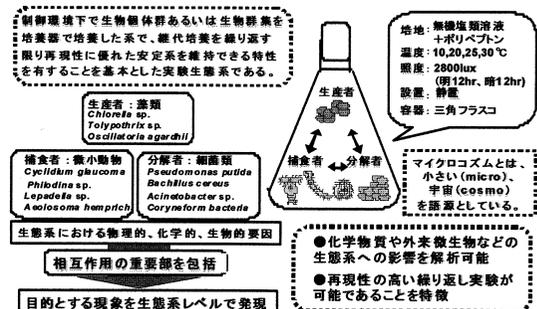


図3 本研究のツールとしてのマイクロコズム

2. 方法

(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 erythropthalma*, 1種の後生動物貧毛類*Aeolosoma hemprichi*の組合せからなるGnotobiotic型マイクロコズムを用いた。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ことを特徴とする。

(2) 金属負荷

公共用水域において要監視項目に位置づけられている Mn^{2+} および富栄養化湖沼などの底質改善材として有用な Mg^{2+} , Ca^{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。

(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50mg/lとなるよう調整したTP培地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°C, 2,800lux(明12hr/暗12hr), 静置条件とした。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。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。

(4) 評価方法

金属添加系におけるP/R比の推移と微生物相を対照系(非添加系)と比較して, 金属が生態系に及ぼす影響を評価した。評価方法は, ①P/R比からの評価: 金属添加後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, ②構成微生物の挙動パターンからの評価: 金属添加後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, ③安定期の個体数(N_{30})からの評価: 金属添加後14日目(培養開始30日目)における各構成微生物の個体数を対照系と比較, ④添加後の現存量($B_{16,30}$)からの評価: 金属添加後14日間の各構成微生物の現存量(面積個体数密度)を対照系と比較, とした。

3. 結果および考察

(1) Mnの生態リスク評価

Mn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, Mnの生態リスク影響を評価した。

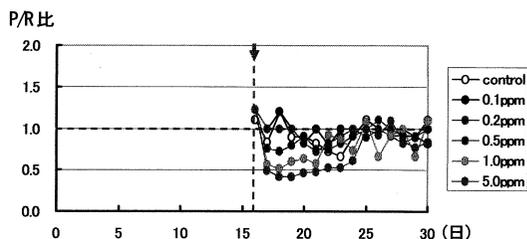


図4 Mn添加系におけるP/R比の経日変化

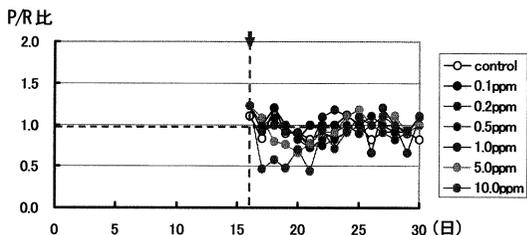


図5 Mg添加系におけるP/R比の経日変化

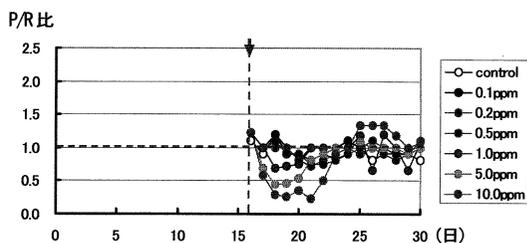


図6 Ca添加系におけるP/R比の経日変化

図4に各濃度におけるP/R比の経日変化を示した。その結果, 1.0mg/lで特に呼吸量に対して影響が生じ, P/R比が減少したが, その後, P/R比=1程度(安定系)に回復した。これより, Mn 1.0mg/lは一時的に毒性を示すが, 慢性的な毒性ではないと考えられた。また, Mn添加後14日間の各構成微生物の挙動パターンを対照系と比較して, Mnの生態リスク影響を評価した結果, マイクロコズムを構成する代表的な種の挙動を比較してみると, 特に原生動物*C.glaucoma*がMn 1.0mg/lで大きな影響を受けていること, すなわち, 共存系においても生物種によって影響の大きさが異なることが示された。さらに, Mn添加後14日目(培養開始30日目)における各構成微生物の個体数(N_{30})を対照系と比較して, Mnの生態リスク影響を評価した。その結果, 対照系と添加系における生物個体数の比をとると, 対照系に比べて個体数が増加している生物群(微細藻類)と減少している生物群(微小動物)に区分されることがわかった。一方, Mn添加後14日間の各構成微生物の現存量(面積個体数密度)(B_{16}

30) を対照系と比較して、Mnの生態リスク影響を評価したところ、対照系と添加系における現存量（面積個体数）の比をとると、N30と同様に、生物群が二分された。

(2) Mgの生態リスク評価

Mg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、Mgの生態リスク影響を評価した。図5に各濃度におけるP/R比の経日変化を示した。その結果、Mg=10mg/lで特に呼吸量に対して影響が生じ、P/R比が減少したが、その後、P/R比=1程度（安定系）に回復した。これより、Mg=10mg/lは一時的に毒性を示すが、慢性的な毒性ではないと考えられた。添加後の挙動パターンからの評価では、Mg添加後14日間の各構成微生物の挙動パターンを対照系と比較したところ、マイクロゾウムを構成する代表的な種の挙動を比較してみると、特に原生動物*C.glaucoma*と水生ミミズ*A.hemprichi*がMg=10mg/lで大きな影響を受けていること、すなわち、共存系においても生物種によって影響の大きさが異なることが示された。安定期の個体数（N₃₀）からの評価では、Mg添加後14日目（培養開始30日目）における各構成微生物の個体数を対照系と比較したところ、対照系と添加系における生物個体数の比をとると、対照系に比べて個体数が増加している生物群（微細藻類・細菌類）と減少している生物群（微小動物）に区分されることがわかった。添加後の現存量（B₁₆₃₀）からの評価では、Mg添加後14日間の各構成微生物の現存量（面積個体数密度）を対照系と比較したところ、対照系と添加系における現存量（面積個体数）の比をとると、N₃₀と同様に、生物群が二分された。

(3) Caの生態リスク評価

Ca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、Caの生態リスク影響を評価した。図6に各濃度におけるP/R比の経日変化を示した。その結果、Ca=5.0mg/lで特に生産量に対して影響が生じ、P/R比が減少した。これより、Ca=5.0mg/lによりマイクロゾウム生態系は影響を受けることが示された。添加後の挙動パターンからの評価では、Ca添加後14日間の各構成微生物の挙動パターンを対照系と比較したところ、マイクロゾウムを構成する代表的な種の挙動を比較してみると、原生動物*C.glaucoma*、後生動物*Lecane* sp.、*A.hemprichi*がCa=5.0mg/lで大きな影響を受けていることがわかる。安定期の個体数（N₃₀）からの評価および添加後の現存量（B₁₆₃₀）からの評価では、Mg添加系と同様に、対照系と添加系における生物個体数・現存量の比をとると、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たが、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。これは、Ca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。以上より、底質改善材としてのMgとCaは、散布した際に生態系に及ぼす影響が異なり、Caの生態リスクはMgの2倍程度と評価された。

なお、本プロジェクトでは上記以外にも金属（Al³⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺）、洗剤（LAS）、農薬（シマジン）、放射線（γ線）、生物産生毒（microcystin-LR）等についても検討をおこなっており、マイクロゾウム試験の標準化に向けた基礎的データの蓄積を図っている。

4. まとめ

- 1) マイクロゾウム試験による生態無影響濃度は、Mn≤1.0mg/l, Mg≤10mg/l, Ca≤5.0mg/lと見積もられ、底質改善材としてのMgとCaは生態系に及ぼす影響が異なり、Mgの生態リスクはCaの1/2程度と評価された。
- 2) マイクロゾウムを活用したP/R比からの生態リスク評価は有効な手段となることが示された。
- 3) 今後、マイクロゾウム試験の感度（バラツキ）に関して、OECD試験等の単一種生物試験と比較検討していく必要がある。

追記：本研究は、環境省平成21～23年度環境研究・技術開発推進費（戦略指定）課題（S2-09）「マイクロゾウ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。

謝辞：本研究を遂行するにあたり、相模女子大学 杉浦桂教授に多大なる協力を賜った。ここに記して感謝の意を表する。

参考文献

- Sugiura, K. (2010) Effects of Chemicals on Microcosms: Comparison with the NOECs in Experimental and Natural Ecosystems, *Jpn. J. Environ. Toxicol.* **13**(1), 37-47.
- Murakami, K. (2010) Microcosm for Risk Assessment of Sediment Remediation Materials on Aquatic Ecosystem, *Proceedings of Water and Environmental Technology Conference 2010* (WET2010), p.53
- Takamatsu, Y., Inamori, Y., Nishimae, H., Ebisuno, T., Sudo, R. and Matsumura, M. (1997) Environmental Assessment of LAS on the Aquatic Ecosystem using a Scale-up System, *Water Science and Technology*, **36**(12), 207-214.