

水生生物を用いた生物応答試験による

名古屋市内河川の影響評価手法の検討

長谷川 絵理, 山守 英朋, 長谷川 瞳

Study of Impact Evaluation Methods for Rivers in Nagoya City by Whole Effluent Toxicity Tests Using Aquatic Organisms

Eri Hasegawa, Hidetomo Yamamori, Hitomi Hasegawa

生物応答を用いた排水試験法は、水に含まれる化学物質等の影響を包括的に評価することが可能である。環境水への適応も期待されているが、環境省から提案された試験法は淡水生物であるため、汽水域が多く存在する名古屋市内の河川への適応は困難である。そこで、海棲生物を用いて市内河川 7 地点で試験を行ったところ、汽水域で生物影響が認められた。しかし、併せて行った化学分析の結果からは影響物質は推定できなかった。淡水域と汽水域で比較すると、淡水域の方が生物影響の認められた地点が多く、淡水生物の方が検出感度は高いと考えられた。

はじめに

生物応答を用いた排水試験法は、公共用水域に排出される事業場排水の生態系への影響を評価する試験法である。水に含まれる化学物質等の影響を包括的に評価することが可能であり、環境水への適応も期待されている。

欧米諸国では、排水規制のツールの一つとして既に導入されており、2011年には韓国においてもWET試験の導入が始まった。日本でも環境省において、試験手法が検討されており、2013年3月に「生物応答を用いた排水(環境水)試験方法(検討案)」¹⁾が提案された。当センターでも2010年度から試験検討を行ってきたが、環境省において提案された「生物応答を用いた排水(環境水)試験方法(検討案)」¹⁾は、淡水棲の水生生物を用いた試験法である。この手法を用いて、環境基準点を含む名古屋市内河川の生物応答試験を行ったところ、汽水域の地点では塩分により化学物質の影響を正確に評価することが困難であった²⁾。

そこで、今回、汽水域が多く存在する名古屋市内の河川の評価を可能にするため、海棲生物による名古屋市内河川 7 地点の生物応答試験を試みた。

調査方法

1. 調査地点

市内の環境基準点を含む 7 地点について、春(5, 6月)、夏(7月)、秋(10, 11月)、冬(1月)に採水し試験を行った。調査地点は図1の通りである。なお、7地点のうち地点1-3は淡水、地点4-7は汽水であった。

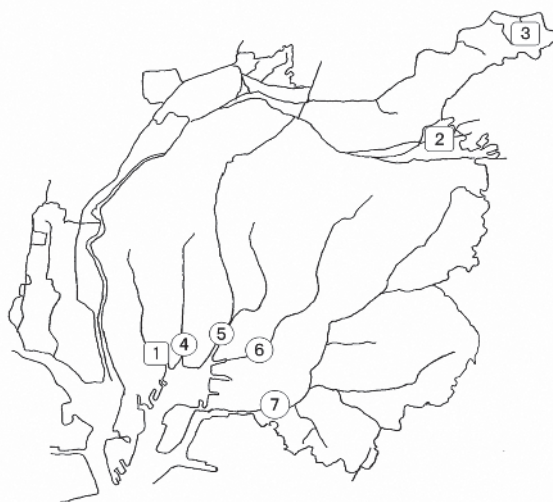


図1 調査地点

□は淡水域, ○は汽水域

2. 試験生物

試験生物は国立環境研究所から分譲されたものを馴化継代し使用した。海棲藻類は市内で採取し単離培養した種を使用した³⁾。

電気伝導度が約 1000 mS/m 以下の地点では淡水棲生物を、1000 mS/m 以上の地点では海棲生物を用いて試験を行った (表 1 及び図 2)。

表 1 試験生物

	魚類	甲殻類	藻類
淡水	①ヒメダカ (NIES-F-1)	②ニセネコゼ ミジンコ (NIES-IV-4)	④ムレミカヅキモ (NIES-35)
汽水	①ヒメダカ (NIES-F-1)	③アミ (NIES-IV-12)	⑤クラミドモナス (市内で採取 ³⁾)

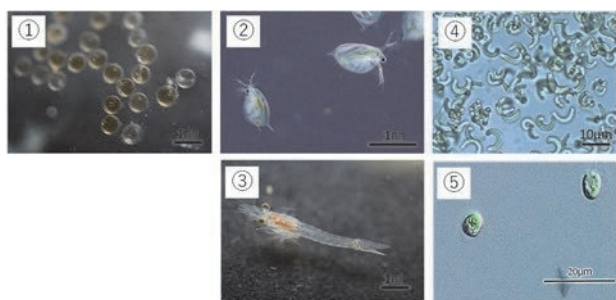


図 2 試験生物

3. 試験方法

淡水では「生物応答を用いた排水 (環境水) 試験法 (検討案)」¹⁾、汽水では「海産・汽水生物を用いた慢性毒性短期試験法 (検討案)」⁴⁾に準ずる方法で行った。濃度区は 100% (藻類は 98%), 50%, 25%, 対照区の 4 濃度区で行った。なお、地点 3 の春のみ 80%, 40%, 20%濃度で試験を行った。

試験の結果は、統計解析ソフト「ECOTOX」⁵⁾を用いて統計解析を行い、無影響濃度 (NOEC) を算出した。

3.1. ヒメダカの胚・仔魚期短期毒性試験

本試験は、ヒメダカの受精卵を水試料に一定期間曝露し、ふ化率や生存率などを対照区と比較することにより魚類に対する水試料の生物影響を明らかにすることを目的に実施した。

試験は、1濃度区で50 ml/容器に受精卵を15個入れたものを4つ用意して行った。水試料の希釈及び対

照区には、淡水での試験時には水道水に脱塩素処理を行い、一定期間ばっ気したものを用いた。汽水での試験では、脱塩素水道水に人工海水 (マリンアートSF-1) を塩分濃度30%となるように添加したものを用いた。試験においては、対照区の6割がふ化した日を「ふ化日」とし、ふ化日から5日後までを曝露期間とした。曝露方式は半止水式 (2日おきに換水) とし、ふ化率と生存率、生存指標を求めた。

3.2. ニセネコゼミジンコの繁殖阻害試験法

本試験は、ニセネコゼミジンコの仔虫を水試料に一定期間曝露し、試験期間中に産仔した仔虫の数を対照区と比較することにより甲殻類に対する水試料の生物影響を明らかにすることを目的に実施した。

試験は、1濃度区で15 ml/容器に生後24時間以内のニセネコゼミジンコを入れたものを10個用意して行った。水試料の希釈及び対照区には、水道水に脱塩素処理を行い、硬度が約80 mg/Lとなるように調整したものを用いた。

試験においては、対照区のミジンコの6割が3回産仔し、産仔数の合計が15匹を超えたところまでを曝露期間とした。曝露方式は半止水式 (2日おきに換水) とし、毎日観察とクロレラの給餌を行い、産仔数と生存率を求めた。

3.3. アミの短期毒性試験

本試験法は、アミを一定期間水試料に曝露し、成熟率や生存率などを対照区と比較することにより海棲甲殻類に対する水試料の生物影響を明らかにすることを目的に実施した。

試験は、1濃度区で200 ml/容器に生後24時間以内のアミを5匹入れたものを4つ用意して行った。水試料の希釈及び対照区には、脱塩素水道水に人工海水 (マリンアートSF-1) を、塩分濃度30%となるように添加したものを用いた。

試験においては、対照区の6割が成熟した日までを曝露期間とした。曝露方式は半止水式 (1日おきに換水) とし、毎日観察とアルテミアの給餌を行い、成熟率、生存率を求めた。

3.3. ムレミカヅキモの生長阻害試験

本試験法は、ムレミカヅキモを一定期間水試料に暴露し、生長阻害率を対照区と比較することにより淡水藻類に対する水試料の生物影響を明らかにすることを目的に実施した。

試験は、1濃度区で100 ml/容器に指数増殖期のムレミカヅキモを5000 cell/ml となるよう添加したものを3容器用意し、対照区は6容器で行った。水試料の希釈及び対照区には、OECD培地を用いた。

試験においては、72時間振とう培養し、曝露方式は止水式で毎日細胞数の計測を行い、生長阻害率を求めた。

3.4. クラミドモナスの生長阻害試験

本試験法は、クラミドモナスを一定期間水試料に暴露し、生長阻害率を対照区と比較することにより海棲藻類に対する水試料の生物影響を明らかにする。

試験は、1濃度区で100 ml/容器に対数増殖期のクラミドモナスを10000 cell/mlとなるよう添加したものを3容器用意し、対照区は6容器で行った。水試料の希釈及び対照区には、IMK培地を用いた。

試験においては、72時間振とう培養し、曝露方式は止水式とし、毎日細胞数の計測を行い、生長阻害率を求めた。

3.5. 化学分析

重金属分析は、水試料を酸溶解法で前処理し、ICP-MS (Agilent Technologies:7700Series) を用いて質量分析を行った。分析対象物質はニッケル、銅、亜鉛等の25物質とした。

農薬類は、水試料を固相抽出法により前処理し、LC/MS (Waters xovo TQD) を用いて定量した。分析対象物質はシマジン、ジウロン、アゾキシストロビンなど15物質とした。

結果と考察

試験結果を表2に示す。地点1-3は淡水生物を、地点4-7は海棲生物を用いて試験を行った。表中の■の数字はNOECの値が50%濃度、■の数字はNOECの値が25%濃度、もしくはNOECが得られなかった結果を表している。

春の調査では、魚類・甲殻類では全ての地点で生物影響は認められなかった。藻類のみ地点3で生長阻害が認められた。

夏の調査では、地点4-7の魚類・甲殻類への影響は認められなかったが、地点6では藻類の生長に影響が認められた。地点1と2では魚類への影響が認められたが、化学分析の結果では影響物質が検出されず、カビの発生により受精卵が死亡したものと考えられた。

秋の調査では、地点2において魚類・藻類への影響が認められたが、今回も化学分析の結果では影響物質は検出されなかった。魚類試験では25%濃度区で受精卵の死亡が多くカビの発生が認められたため、ろ過滅菌により河川水进行处理して再試験を行ったところ、受精卵の死亡数は顕著に減少し無影響濃度は100%となった。地点3では甲殻類と藻類試験において影響が認められた(図3)。淡水と汽水で結果を比較すると、海棲生物を使用した試験では目立った生物影響は認められなかった。

冬の調査では、地点4において3種すべてで生

表2 試験結果

地点	①				②				③				④				⑤				⑥				⑦			
	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬
NOEC	魚類	100	<25	100	25	100	50	<25	100	80	100	100	100	100	100	<25	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	甲殻類	100	100	100	100	100	100	100	100	80	100	50	100	100	100	50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	藻類	100	100	100	100	100	100	50	100	40	100	50	50	100	100	25	100	100	100	50	100	50	100	100	100	100	100	100
電気伝導率 (ms/m)	40	49	72	140	25	24	28	37	13	11	13	13	1970	1130	1980	1920	3330	2070	3370	2800	1450	2420	3920	2770	1520	1300	1160	1730
Ni(μg/L)	2.4	1.3	5.2	5.4	0.9	0.6	2.2	2.0	1.6	0.7	0.8	0.7	2.1	2.4	3.2	3.3	5.4	4.8	3.4	2.1	2.4	3.0	2.2	7.7	4.2	3.4	6.0	13.5
Cu(μg/L)	1.6	1.0	1.1	0.9	4.6	2.0	2.8	5.3	2.3	0.6	<0.1	<0.1	2.4	1.6	1.0	4.1	1.7	1.8	2.2	1.4	5.8	1.5	1.3	2.5	3.1	2.1	1.9	4.5
Zn(μg/L)	<5	<5	<5	<5	<5	<5	11.3	15.4	11.0	<5	<5	<5	<5	<5	10.9	28.3	<5	<5	8.5	<5	<5	<5	<5	7.2	8.3	<5	<5	8.0
Cd(μg/L)	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
Diuron(ng/L)	7.0	12	<2.5	15	6.8	7.2	12	11	-	<2.5	-	-	6.7	12	<2.5	30	3.3	24	10	15	17	43	<2.5	16	8.9	66	13	26

物影響が認められた (図4)。魚類試験ではふ化をせず受精卵のまま死亡していく個体が多く見られた結果、ふ化率、死亡率、生存指標において対照区と比較して有意な差がみられた。甲殻類試験では100%濃度区で約半数のアミが死亡したが、生存個体の体長は対照区と比較しても有意な差は見られなかった。

藻類試験でも 100、50%濃度区において生長阻害が認められた。化学分析の結果から亜鉛濃度が 28 $\mu\text{g/L}$ であり、これはムレミカヅキモの NOEC: 5 $\mu\text{g/L}$ を超過しているため、海棲藻類にも影響を及ぼしたと推測する。しかし、他の影響物質は認められなかったため今後の課題としたい。

甲殻類への影響が強いとされるニッケルの NOEC は 2.0 $\mu\text{g/L}$ であり、重金属分析から今回この濃度を超過する地点が多く認められたが、生物影響との相関は得られなかった。

また、農薬の分析を行った結果、除草剤の一種である Diuron が検出されたが、いずれも濃度は低く、ニセネコゼミジンコの繁殖に影響を及ぼす濃度は 10,000 ng/L ⁶⁾であることから、農薬による影響は見られなかつ

たと考えられた。

文 献

- 1) 排水 (環境水) 管理のバイオアッセイ技術検討分科会:「生物応答を用いた排水試験法」
- 2) 長谷川絵理他:生物応答を用いた名古屋市内河川の評価,第49回日本水環境学会年会 (徳島) 要旨集, 581 (2016)
- 3) 山守英朋他:短期慢性毒性試験に利用する海産微細藻類の探索,第57回日本水環境学会年会 (愛媛) 要旨集, 523 (2023)
- 4) 国立環境研究所他:海産・汽水生物を用いた慢性毒性短期試験法 (検討案) (2021)
- 5) 環境毒性学会:生態毒性の推定 構造活性相関 QSAREcoTox (yoshiokayy.wixsite.com) <https://yoshiokayy.wixsite.com/mysite> (2024.8.5 アクセス)
- 6) USEPA: ECOTOXKnowledgebase, <https://cfpub.epa.gov/ecotox/search.cfm> (2024.3.1 アクセス)

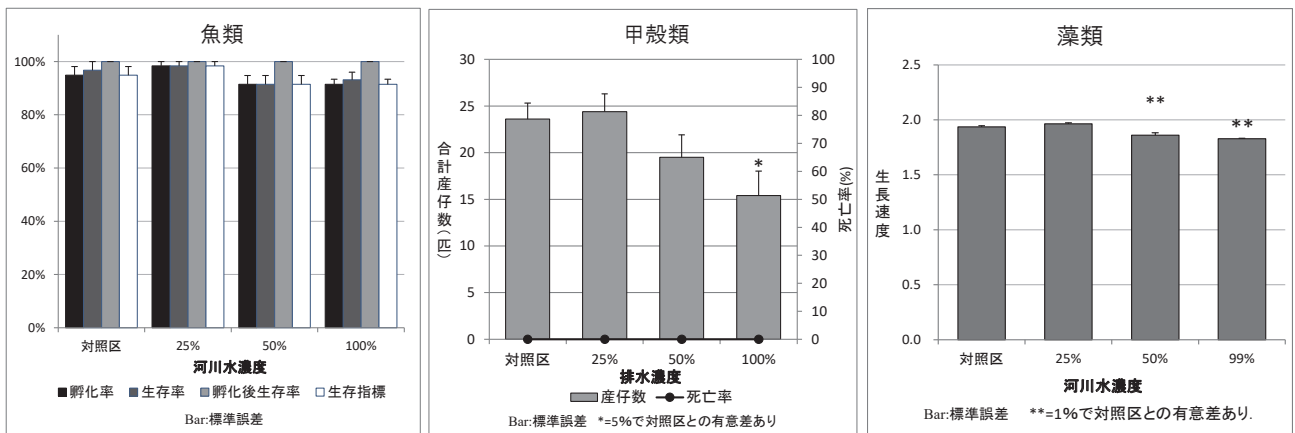


図3 地点3の秋季淡水生物試験結果

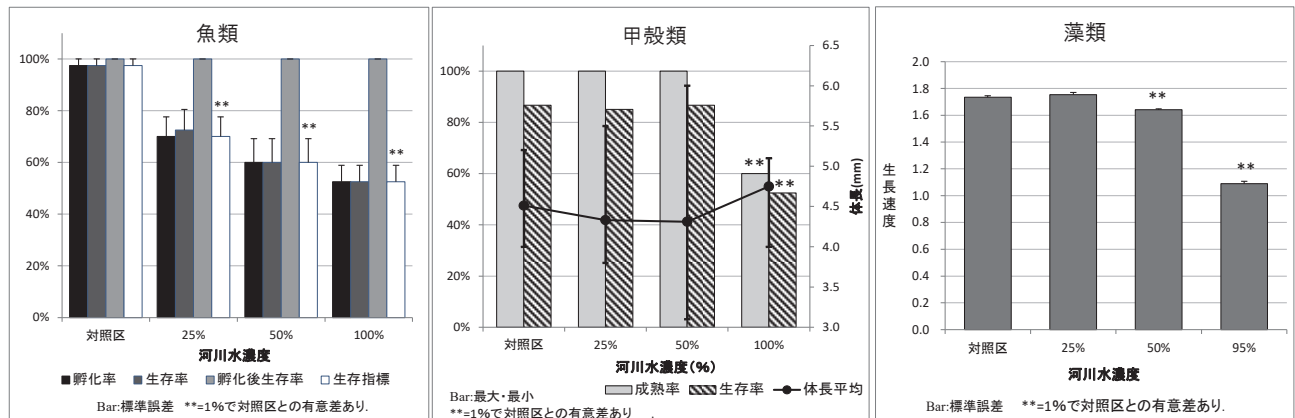


図4 地点4の冬季海棲生物試験結果