

藻類の増殖に及ぼす化学物質の影響

紺野良子 若林明子

1 はじめに

近年、各種化学物質、特に洗剤や除草剤、殺虫剤などが水域に流出し、魚類の斃死・水生生物への濃縮の外、藻類の異常繁茂や枯死などを引き起こすことが問題になってきている。著者らは各種界面活性剤等の水生生物に対する毒性や濃縮性について検討してきているが、今回、市販合成洗剤に含まれている界面活性剤と農地や園芸に広く用いられている殺虫剤の藻類の増殖に与える影響を調べた。

供試藻類として緑藻類ムレミカズキモ属 *Selenastrum capricornutum* を用い、供試化合物として陰イオン界面活性剤4種と非イオン界面活性剤1種、殺虫剤2種を用いた。

2 実験

藻類: *Selenastrum capricornutum*

培地: Gorham の培地を改変した表1の組成のものを、汙過滅菌して用いた。なお、表中の多摩川の河川水は和田橋上流で採水したものをを用いた。

供試化合物: LAS (直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム)花王石鹼併製、平均アルキル鎖長は11.7。

AOS (α -オレフィンスルホン酸ナトリウム)ライオン併製、アルキル鎖長は16のものが58%、18のものが42%、アルケニル基とヒドロキシニル基の比は75.3:24.7、平均分子量350.7。

AES (硫酸アルキルポリオキシエチレンナトリウム)日光ケミカル併製、平均アルキル鎖長は13.5、平均エチレンオキッド添加モル数は3、純分19.1%。

AE (ポリオキシエチレンアルキルエーテル)花王石鹼併製、平均アルキル鎖長は12、平均エチレンオキッド添加モル数は6.5。

AS (アルキルサルフェート)アルキル鎖長14のアルコールから相当するサルフェートを合成。

MPP (0,0-ジメチル-0-[3-メチル-4-(メチルチオ)

フェニル]チオホスフェート:商品名バイジッド)和光純薬併製、残留農薬試験用標準物質。

MEP (ジメチル(3-メチル-4-ニトロフェニル)チオホスフェート:商品名スミチオン)同上。

操作:¹⁾培養はすべて無菌条件下で行った。表1の組成の培地をシリコセン(信越ポリマー社製)付500ml三角フラスコに100mlずつ分取し、そこへ界面活性剤の濃厚溶液を各フラスコへの添加量が1.5ml以下になるように加えて段階的に所定濃度にした。別に供試化合物を含まないものを用意してコントロールとした。MPP, MEPの場合は非水溶性なので少量のアセトンを溶解助剤として添加し、コントロールにも同量の0.8mlのアセトンを加えた。いずれも同じものを3組ずつ揃えた。予めコントロールと同じ条件で前培養して対数増殖期にある藻類を新しい培地で希釈したものを加え、各フラスコへの植種量が $1,200 \text{細胞} \cdot \text{ml}^{-1}$ となるようにした。

培養は温度 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、照度 $4,100 \pm 100$ ルクス(白色蛍光灯)の連続照射で毎分90回転の振とう条件の下で行った。

1日1~2回フラスコから培養液を少量サンプリングし、汙過食塩水で希釈して0.9%食塩濃度として、ペーティクルカウンターPC820改造型(エルマ光学社製)を用いて藻類の細胞数、平均細胞容量、全細胞容量(TCV)を測定した。各時間毎のTCVを対数目盛で縦軸に、時間を横軸にプロットした。

増殖が最も活発な対数増殖期における藻類の比増殖速度(μ)は次式で表わされる。

$$\ln C = \mu t + \ln C_0 \dots\dots \textcircled{1}$$

ここで、Cは培養時間tにおける藻類濃度、 C_0 は初期藻類濃度である。

供試化合物のそれぞれについて、各測定時間tに対し測定した3組のC(TCV)の平均値を①式に代入し、最小二乗法で求めた直線の傾きから μ を算出した。次に

コントロールの増殖量について同様に求めた傾きを μ_0 とし、 μ_0 に対する μ の比をEC (Effective concentration) として、この値を各供試化合物の濃度に対して図にプロットした。図から $\mu/\mu_0 = 0.5$ となる時の EC_{50} (50%影響濃度)を求めた。ECが1以下であると藻類の比増殖速度に対する供試化合物の阻害影響が認められることを意味し、数値が小さい程、その影響は大きいことを示す。また、 EC_{50} は小さい程、低濃度で阻害影響が現れることを示す。

増殖終期にTCVが最大プラトーになる時の最大増殖量を測定し、下式で表わされるM (最大増殖量の比)を同様にプロットした。

$$M = X'_{max} / X_{max} \dots\dots(2)$$

ただし、 X_{max} , X'_{max} はそれぞれコントロール、各供試溶液の最大藻類増殖量である。Mが小さい程、最大藻類増殖量に対する阻害影響が大きいことになる。

3 結果と考察

図1に *Selenastrum capricornutum* の増殖量を経時的にプロットしたコントロールの増殖曲線を示す。図2~7には各化合物の供試濃度を対数目盛で横軸に、対数増殖期の比増殖速度の比ECと、最大増殖量のコントロールのそれに対する比Mを縦軸にとって示した。

表1 培地の組成

化合物	濃度(mg・ℓ ⁻¹)
NaNO ₃	19.84
K ₂ HPO ₄	1.56
MgSO ₄ ・7H ₂ O	3.0
CaCl ₂ ・2H ₂ O	1.44
Na ₂ CO ₃	0.8
Na ₂ SiO ₃ ・9H ₂ O	2.32
Na ₂ EDTA・2H ₂ O	0.2
citric acid	0.24
Fe citrate	0.24
多摩川河水	0.4 (ℓ・ℓ ⁻¹)

LASは今回の7物質の中では、増殖を阻害する濃度が最も高く、その EC_{50} は約 $83\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ であった。また、ECは $25\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 程度までは1よりも大きく、環境水中では富栄養化の誘因となる可能性がある。

AOSは、培地溶液でのほぼ溶解限界である $20\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ でもECが0.7、Mが0.6程度であり、比増殖速度や最大増殖量に対する阻害影響はそれ程大きくない。

AESは比増殖速度の EC_{50} は約 $14\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ であり、

この濃度以上では藻類増殖に阻害影響が強く現れているが、 $7.5\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ までは影響が小さい。

AEは、比増殖速度の EC_{50} は約 $1.4\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ であるが、 $0.4\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ までは影響が小さい。界面活性物質の中ではAEが最も低濃度で比増殖速度に影響がある。

ASの比増殖速度の EC_{50} は約 $9\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ である。

MPP、MEPの EC_{50} はそれぞれ1.3、 $1.4\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ であるが、いずれも最大増殖量が $0.5\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ でも阻害を受け、 $2.5\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ では90%以上の阻害を受けており、界面活性剤と比較すると比増殖速度ばかりでなく最大増殖量に与える影響が大きいことが分かる。

山根らは洗剤について EC_{50} を次のように報告している²⁾； EC_{50} がLAS $50 \sim 100\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、AOS $45\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、AES $65\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、AE $4 \sim 8\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、AS $60\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 。LASを除くとこれらはいずれも今回の結果より高濃度である。これは供試化合物の化学構造(アルキル鎖長など)が、LAS以外は著者らと異なることによるものと考えられる。

また、魚類に対するこれらの化合物の急性毒性について比較すると、ヒメダカの48時間 LC_{50} がLAS $10\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、AOS $0.81\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、AS $2.5\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、AE $3.3\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、MPP $2.5\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 、MEP $7.0\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ (いずれも淡

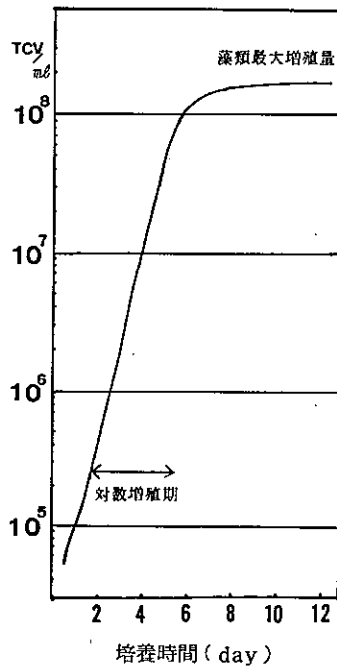


図1 *Selenastrum capricornutum* の増殖曲線

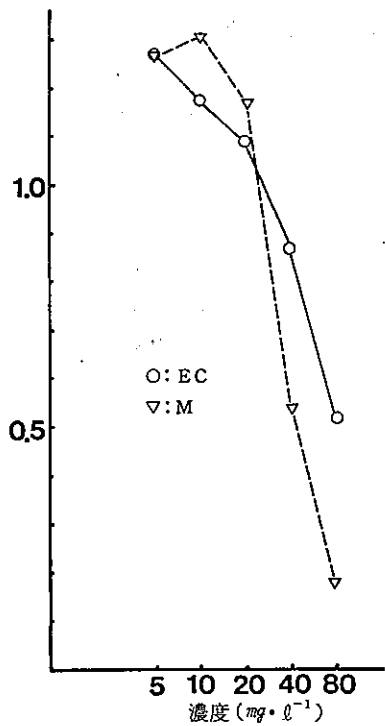


図2 LASのECとM

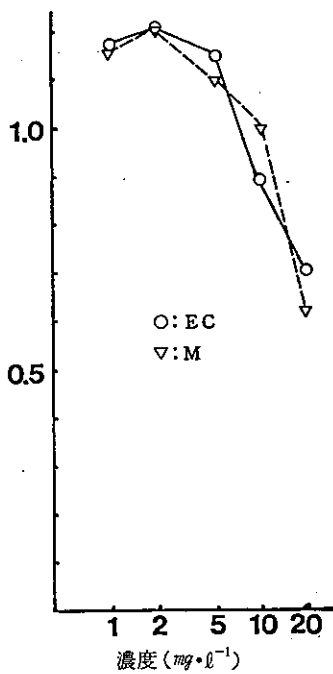


図3 AOSのECとM

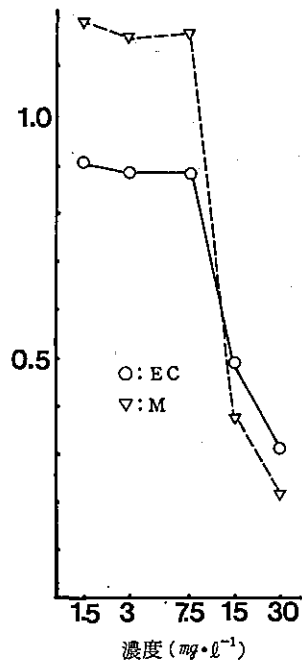


図4 AESのECとM

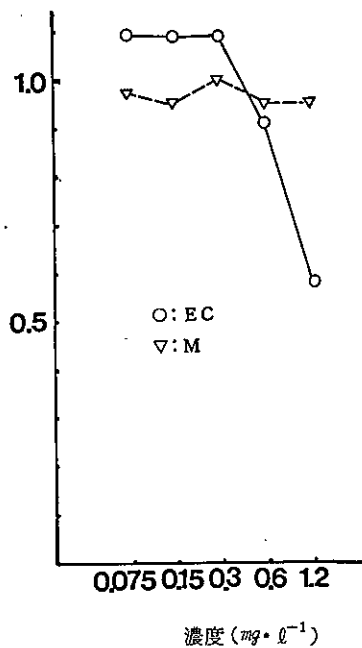


図5 AEのECとM

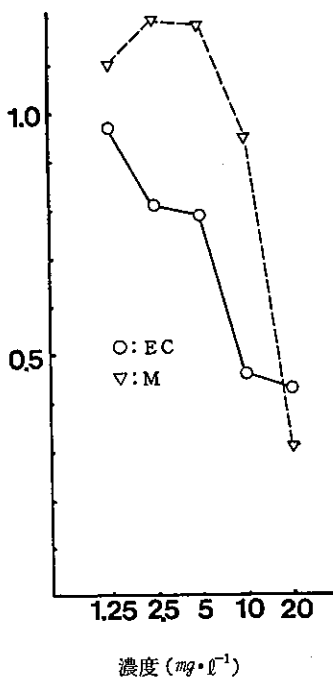


図6 ASのECとM

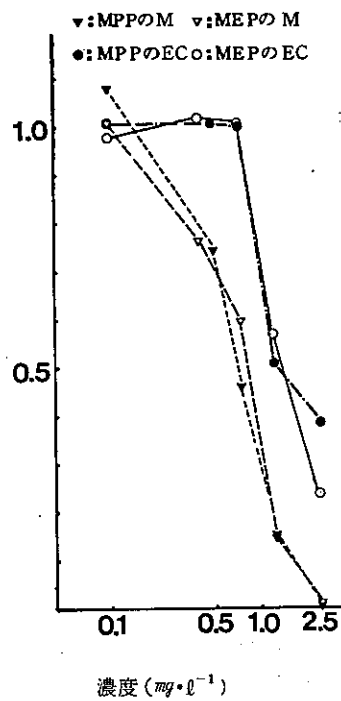


図7 MPP, MEPのECとM

水の結果で物質成分は同じもの)であり³⁾⁴⁾、AEとMPP、MEPを除いて藻類のEC₅₀の方がいずれも高濃度である。特にヒメダカに対しては強く作用するAOSは藻類の増殖への阻害度が低かった。逆に、AE、MPP、MEPは藻類の方が魚より感受性が高い結果となった。

以上のように化学物質に対する感受性は生物種によって大きく異なることが分かる。

4 おわりに

藻類を供試生物とした生物検定については、比増殖速度を指標とする場合とAGP (Algal Growth Potential: 最大増殖量を乾燥重量で表わしたもの)を指標とする場合があり⁵⁾、それぞれ一長一短がある。

最大増殖量の指標は対象水系への流入する汚濁負荷の影響を予測する時、湖沼等の閉鎖水系の水質の藻類潜在増殖能力を調べる場合に有効である。一方、流水域で流入汚濁因子の短期影響を調べる場合や供試物質が分解され易い場合には、比増殖速度を指標とするのが有効であろう。

今回の結果では、最大増殖量より比増殖速度に影響が現われているAE、ASのような例と、殺虫剤のように比増殖速度より最大増殖量に強い阻害効果が現われている例が見られるので、今後更に他の化学物質について両指標を用いて検討してみたい。

また、魚類と藻類といった生物種の違いだけでなく、藻類の種類によっても藻類増殖量への影響が異なることが知られているので⁶⁾、今後、藻類の種類を変えた例も調査比較する予定である。

なお、試験藻類の*Selenastrum capricornutum*は国立公害研究所環境科学研究協議会から提供を受けたものである。

参 考 文 献

- 1) 須藤隆一他: 陸水域の富栄養化に関する総合研究(X) 藻類の培養試験法によるAGPの測定, 国立公害研究所研究報告, 第26号(1981)
- 2) A.N.Yamane *et.al.*: The Growth Inhibition of Planktonic Algae due to Surfactants Used in Washing Agents, *Water Res.*, 18(9), 1101-1105(1984)
- 3) M.Kikuchi *et.al.*: Lethal Response of

Some Surfactants to Medaka *Oryzias Latipes* with Relation to Chemical Structure, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50(7), 1235-1240(1984)

- 4) 西内康治: 農薬製剤の数種淡水産動物に対する毒性(20), *水産増殖*, 21, 127-130(1974)
- 5) N.Nyholm: Response Variable in Algal Growth Inhibition Tests - Biomass or Growth Rate?, *Water Res.*, 19(3), 273-279(1985)
- 6) 山根敦子他: 藻類の増殖に及ぼす洗たく用洗剤の影響, *水質汚濁研究*, 7(9), 576-582(1984)