

Point

化学物質の生態影響評価に用いられるOECDテストガイドラインの藻類生長阻害試験法が2006年に改訂され、推奨される試験藻類に珪藻1種と藍藻2種が追加されました。このうち2種の培養方法および試験条件を検討し、新規淡水藻類を用いた毒性試験の有効性を調べました。

新規淡水藻類による藻類生長阻害試験

環境創造研究所 環境リスク研究センター リスク評価部 岡村 哲郎、宮本 信一

はじめに

私たちの身の回りには多くの化学物質が存在し、利用されていますが、環境中に放出された化学物質が生態系に及ぼす影響が懸念されています。化学物質の水域生態系への影響を調べるためには、食物連鎖で重要な役割を果たしている藻類、甲殻類、魚類を用いた毒性試験が広く実施されています。

当社の環境創造研究所は、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(化審法)のGLP(優良試験所基準)適合施設として、これまでにさまざまな化学物質について藻類、甲殻類、魚類を用いた毒性試験を実施し、化学物質の生態影響評価に取り組んできました。

化学物質の生態影響評価を目的とした藻類を用いる毒性試験法として「OECDテストガイドライン201: 藻類生長阻害試験法」(以下、OECD TG201)があり、国際的な合意が得られています。従来、OECD TG201では、試験藻類として2種の緑藻*Pseudokirchneriella subcapitata*(以下、ムレミカツキモ)、*Desmodesmus subspicatus*(以下、デスマデスムス)が推奨されており、国内では緑藻ムレミカツキモ(写真1)のみが広く使用されてきました。

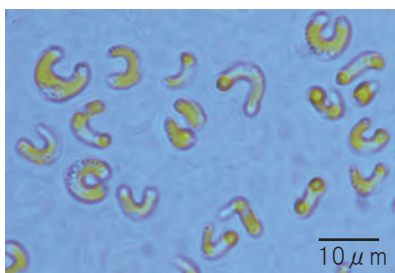


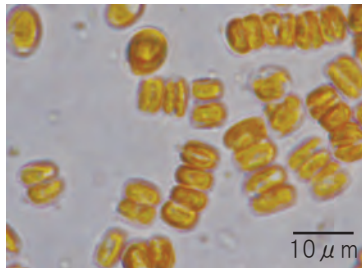
写真1 緑藻 ムレミカツキモ
Pseudokirchneriella subcapitata ATCC 22662株

2006年にOECD TG201が改訂され、2種の緑藻に加えて、珪藻1種*Navicula pelliculosa*(以下、ナビクラ)、藍藻2種*Synechococcus leopoliensis*(以下、シネココッカス)、*Anabaena flos-aquae*が推奨される試験藻類となりました。そこで、追加された珪藻ナビクラおよび藍藻シネココッカス、ならびに改訂前から推奨されていたものの、これまで国内ではほとんど使用されてこなかった緑藻デスマデスムスの3種の藻類について培養方法および試験条件を

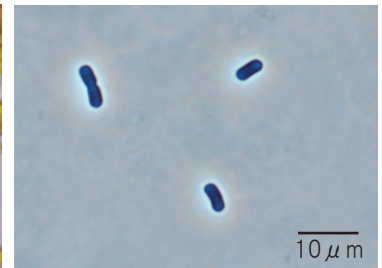
検討し、新規淡水藻類を用いた毒性試験の有効性を調べました。

試験に供した淡水藻類

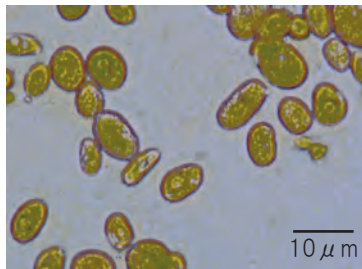
試験に供した淡水藻類を写真2に示します。珪藻ナビクラおよび藍藻シネココッカスは、米国テキサス大学の藻類コレクションから、緑藻デスマデスムスは、(独)国立環境研究所の微生物系統保存施設から入手しました。



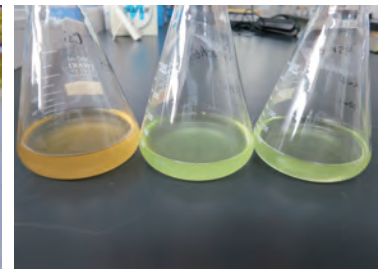
珪藻 ナビクラ
Navicula pelliculosa
UTEX-B673株



藍藻 シネココッカス
Synechococcus leopoliensis
UTEX-B673株



緑藻 デスマデスムス
Desmodesmus subspicatus
NIES-797株



淡水藻類の培養液
(左から珪藻、藍藻、緑藻)

写真2 試験に供した淡水藻類

培養方法および試験条件の検討

試験実施機関では、試験に用いる生物の安定的な維持管理が求められます。一方、藻類は種によって栄養や光の要求性が異なることからさまざまな培養方法が報告されています。そこで、新規の淡水藻類の維持管理に最適な培地と培養条件を検討しました。3種の淡水藻類の継代培養に共通して使用可能な寒天培地を決定し、藻類の安定的かつ効率的な維持管理が可能になりました。

また、藻類試験が適切な条件で実施されていることを担保するために、OECD TG201には試験が成立する要件として、試験中の藻類細胞の生長速度と増殖した生物量(細胞密度)に基準が定められています。種ごとに培地の種類、照度、振とう方法等について検討し、試験成立基準を満足する試験条件を決定しました。



写真3 藻類生長阻害試験の実施風景

新規淡水藻類を用いた毒性試験

国内の水田で一般的に使用され、その作用機作(薬物が生体に何らかの効果を及ぼす仕組み)が異なる除草剤A、B、Cについて、珪藻ナビクラ、藍藻シネココッカスおよび緑藻デスマデスマスの3種の淡水藻類による生長阻害試験を実施し、50%生長阻害濃度(以下、ErC50)を調べました。ErC50とは、通常の藻類の生長速度を半減させる化学物質(除草剤)の濃度であり、毒性を表す指標として用いられます。ErC50の値が小さいほど毒性が高いことを意味します。

各除草剤について、生長阻害試験で調べた淡水藻類のErC50を表1に示します。最も高い毒性(小さいErC50)がみられた藻類は、除草剤Aでは緑藻デスマデスマス、除草剤Bでは珪藻ナビクラ、除草剤Cでは藍藻シネココッカスでした。一方、藍藻シネココッカスは除草剤Aに、緑藻デスマデスマスは除草剤B、Cに影響を受けず、各除草剤に対する藻類の感受性は、種によって大きく異なりました。これは、試験に用いた除草剤の作用機作が異なることが原因と考えられます。

新規淡水藻類に対する各除草剤のErC50の最小値を従来の試験藻類である緑藻ムレミカツキモのErC50の文献値と比較すると、緑藻ムレミカツキモのErC50よりも小さい値でした。いずれの除草剤についても、これまでに国

内で試験に広く使用されてきた緑藻ムレミカツキモよりも感受性が高い種が存在することが確認されました。これらの結果から、除草剤の藻類に対する影響を適正に評価するためには、緑藻ムレミカツキモだけではなく、複数種の藻類について有害性を調べる必要があることが示唆されました。

表1 除草剤A、B、Cの50%生長阻害濃度(ErC50) 単位: $\mu\text{g/L}$

藻類	除草剤A	除草剤B	除草剤C
珪藻 ナビクラ	620	0.95	210
藍藻 シネココッカス	>2,500	730	54
緑藻 デスマデスマス	1.5	>290	>680
緑藻 ムレミカツキモ	35.7 ¹⁾	>38.9 ²⁾	>246 ³⁾

各除草剤に対する最小値を示すムレミカツキモの数値は既存文献値

まとめ

藻類生長阻害試験には、これまで国内では緑藻ムレミカツキモが広く使用されてきました。今回、化学物質に対する藻類の感受性が種によって大きく異なることが確認され、複数種の藻類を用いて生態影響を評価することの重要性が示されました。甲殻類や魚類についても、同様に生物種によって化学物質に対する感受性は大きく異なると考えられます。今後は、複数種について影響を把握し、より感受性が高い生物に対する有害性情報に基づいて化学物質が水域生態系に及ぼす影響を評価していくことが重要になると考えられます。

環境創造研究所では、化学物質や排水等の影響評価のために、藻類のほかメダカ、ミジンコ、水生昆虫のユスリカ等の淡水生物に加えて、クルマエビやマダイ等の海生生物を使用した生物試験にも取り組んでいます。今後も多様な生物試験に対応していくために、さまざまな水生生物による試験体制の整備を進めてまいります。

〔出典〕

- 1) 環境省(2013), 農薬登録保留基準の設定に係る資料
- 2) lwafune et al.(2012), Bull Environ Contam Toxicol 99, pp.38-42
- 3) 環境省(2009), 農薬登録保留基準の設定に係る資料

※本レポートの一部は、環境省から委託を受けた業務の成果を基に作成しました。公表内容は環境省の見解ではなく、当社の責任において取りまとめたものです。