

氏 名	金 尚 吉
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 1813 号
学位授与の日付	平 成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	工 学 研 究 科 環 境 地 球 工 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	DEVELOPMENT OF ECOTOXICOLOGICAL TEST USING <i>CLOSTERIUM EHRENBORGII</i> (AGZI-TEST) (三日月藻を用いた生態毒性試験法の開発 : AGZI-TEST) (主査) 論 文 調 査 委 員 教 授 松 井 三 郎 教 授 森 澤 眞 輔 教 授 津 野 洋

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、経済的に簡便に測定しうる水域生態毒性試験法を開発するため、清流にすむ淡水産緑藻の三日月藻 *Closterium ehrenbergii* を用いた手法の実験的研究をまとめたものである。

論文は、全6章から成る。

第1章は、序論であり、本論文の試験法の位置付けを生物種に対する毒性効果を調べる生態毒性試験として明らかにし、当研究分野における既往の研究を振り返って、研究全体の目的と構成を示している。

第2章では、三日月藻 *Closterium ehrenbergii* を用い、短期間で経済的にかつ簡便な生態毒性試験 (AGZI test; Algal Growth and Zygosporangium Inhibition test) の培養条件、手順、新しい評価指標などを開発した。三日月藻が特に無・有性生殖を行うことや巨大な単細胞 (300ミクロン) であることで顕微鏡を用い細胞内諸組織の損傷を調べることが可能である。その結果多様な新しいパラメータやエンドポイントを開発した。短時間 (96時間) の暴露で、GI (Growth Inhibition) とZI (normal Zygosporangium Inhibition) testを行うAGZI test (Algal Growth and Zygosporangium Inhibition test) と呼ぶ新しい藻類の生態毒性試験法を体系化した。

第3章では、非イオン型と陰イオン型界面活性剤を用い、AGZI testを検証している。増殖量 (growth) と正常接合子形成率 (normal zygosporangium ratio) といったパラメータを使い、毒性の定量化と試験の標準化を構築した。特に三日月藻の形態的な損傷 (morphological effects) とAGZI50 (GIとZI testでのEC50の比率) といった新しい指標で、細胞損傷と無・有増殖型の選択を表している。AGZI testは生態毒性試験の中でもOECDの推薦藻類 (*Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella vulgaris*) や他の生態毒性試験 (ミジンコ、魚) よりも遥かにより感受性の試験結果を報告している。

第4章においては無濃縮の下水処理場放流水を対象にして生態毒性負荷の程度をAGZI testで評価している。無濃縮の下水処理場放流水に対し、三日月藻の致死効果はなかったが増殖と正常接合子形成において、大きく阻害したことを示している。50%希釈率の放流水でも、細胞のpyrenoidが大きくなることや接合子形成過程に起きる接合子の損傷などを報告している。下水処理場放流水中の疎水性物質は、GI testにおいて増殖への大きな阻害があること、ZI testでは、楕円形などの異常接合子形成を誘発することを報告している。特に放流水の疎水性物質の毒性負荷が三日月藻の増殖方法の変化 (無性から有性へ) を引き起こす一つの原因ではないかと推定している。

第5章では、葉緑体蛍光測定器 (Chlorophyll fluorimeter) を用い、下水処理場放流水の疎水性物質が三日月藻の光合成作用阻害毒性を持つことを示している。光合成機能中のPhotochemical quenching processには損傷を起こさず、Nonphotochemical quenching processにおいては試験開始5時間後から損傷が生じることを報告している。このことから下水処理場放流水の疎水性物質が三日月藻の光合成機能を低下させ、GI testの増殖に影響を与えたことを示している。

第6章では、本論文で得られた成果をまとめて結論とし、今後の展望についても言及している。

論文審査の結果の要旨

本論文は、貧栄養淡水藻 *Closterium ehrenbergii* を用いて水環境汚染による水域生態系への毒性影響を経済的に精度良く測定する生態毒性試験法を開発したものである。得られた研究成果は以下のようである。

1. 三日月藻 (*Closterium ehrenbergii*) を用い、生態毒性試験 (AGZI test; Algal Growth and Zygosporangium Inhibition test) の培養条件、手順の確立と、新しいエンドポイントなどを開発した。三日月藻は巨大単細胞であることから、顕微鏡を用いて細胞内諸組織の損傷を判定することが可能で、その利点を生かした毒性試験法を体系化した。
2. 界面活性剤 (陰イオン型と非イオン型) を利用して、AGZI test の感受性をOECDガイドラインの試験藻類と比べると、優れていることが明らかとなった。また他の生態毒性試験生物 (ミジンコ、魚) と比べても鋭敏な試験法であることが明らかとなった。
3. 無濃縮の下水処理場放流水を対象にして生態毒性の程度をAGZI test で評価した。特に、放流水中の疎水性物質の毒性が三日月藻の増殖方法の変化 (無性増殖から有性増殖へ) を引き起こす一つの原因である可能性を示した。
4. 葉緑体蛍光測定器 (Chlorophyll fluorimeter) を用い、下水処理場放流水の疎水性物質が、三日月藻の光合成阻害毒性を持つことを示した。光合成機構中のPhotochemical quenching processには損傷を起こさず、Nonphotochemical quenching processが試験開始5時間後から損傷を受けることを示した。

以上要するに、本論文は、淡水藻 *Closterium ehrenbergii* が (三日月藻) の増殖阻害と細胞損傷を指標とする生態毒性試験法を開発した。この新しい試験法は、湖沼や河川などへ流入する微量汚染物質の毒性を評価する生態毒性試験法として、多くの有用な知見を含んでおり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士 (工学) の学位論文として価値のあるものと認める。また、平成11年2月19日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。