

自分たちで調べる生物応答試験 自らが出す排液の環境に与える影響

小林 るみ

津山工業高等専門学校 技術部

1. はじめに

現在、生物分野を学ぶ学生にとって、環境問題を意識し理解することは必須である。近年、科学技術の進歩により多種多様な化学物質が環境中に排出されており、生物に影響を及ぼすことが懸念されている。そこで排水が水生生物に与える影響を調べることで、学生らが環境問題を意識する実習が必要だと考えた。今回、津山工業高等専門学校 総合理工学科 先進科学系の学生が自ら出した実験廃液を使って、水生生物に与える影響を調べる生物応答試験の実験実習を開発し、学生らの環境問題に対する意識を高め、その理解を促すことを試みた。

2. 生物応答試験とは

環境中に排出される化学物質の多種多様化が進み、有害性が明らかになっていないものや排水規制に至らない化学物質が水生生物に対し影響を与えることが懸念されている。しかし、それらすべての化学物質一つ一つの毒性試験を行なうことは時間や労力の面から現実的に困難である。こうした背景のもと、実際に排出されている排液に水生生物を曝露し、総合的な結果として影響が出るか判断する生物応答試験が実施されている。

今回、実験実習に用いる生物応答試験は環境省が法制化に向けて 2009 年から検討を進めている WET (whole effluent toxicity) 試験を参考にし、実験条件を確立した。

3. 実験に利用する水生生物

生態系は、地球の様々な生き物が食物連鎖によって他の生き物を利用することで成り立つ。水生生物の食物連鎖を表した生態ピラミッド(図1)をみると、光などの外部エネルギーを吸収し有機物を合成する「生産者」、それを利用し食す「一次消費者」、さらにそれを高次の消費者が利用し食すことで生態系のバランスが保たれている。環境汚染は、この生態ピラミッドのバランスが崩れることで起きるといっても過言ではない。今回、生態ピラミッドの最下段「生産者」である植物性プランクトンと、「一次消費者」である動物性プランクトンを使って生物応答試験を行ない、得られた結果から生態系のバランスが崩れるイメージを学生に持たせることを考えた。植物性プランクトンは毒性感受性が強いといわれるムレミカヅキモを使用し、動物性プランクトンは化学物質の影響評価のモデル生物として広く用いられているオオミジンコを使用した。ムレミカヅキモは自切により増殖したものを用い、オオミジンコは単為生殖で増殖したものを用いた。すなわちムレミカヅキモおよびオオミジンコともに遺伝的にクローンであり、これらを使用することでゲノムによる応答の差が生じることなく実験条件の違いのみで結果を得ることができる。

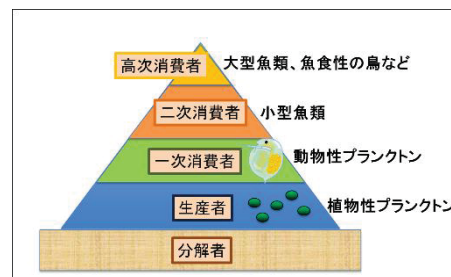


図1 水生生物の食物連鎖を表した生態ピラミッド

4. 実験に使用した廃液

今回の目的は、学生たちが自ら出した実験廃液を使用して生物応答試験をすることにある。また生物応答試験に適した廃液は化学物質が多種多様に入らなければならない。以上より本実験で使用する廃液は今年度7月津山高専 先進科学系の学生が行なった化学実験において、化学物質を多種多様に使用し

た水の硬度測定実験〈キレート滴定〉の廃液を利用した。廃液は希釈倍率 12.5 倍, 25 倍, 50 倍, 100 倍, 200 倍, 400 倍の 6 段階を用いた。

5. 実験条件

5-1 ミカヅキモの曝露実験 廃液を段階的に希釈した液にムレミカヅキモを 1 週間曝露し振とう培養を行った (明暗条件 明 10 時間・暗 14 時間, 室温 23°C, 振とう速度 200rpm)。培養には OECD 培地を使用し, 培養容器は滅菌した 20mL 三角フラスコを用いた。その間 2 日おきに増殖したムレミカヅキモの数を血球計算盤にて計測した。

5-2 ミジンコの曝露実験 廃液を段階的に希釈した液にオオミジンコを 1 週間曝露し培養を行った (明暗条件 明 14 時間, 暗 10 時間)。培養には ADaM 培地を使用し, 培養容器は 50mL 管瓶を用いた。その間, 暴露したオオミジンコの生死, 暴露したオオミジンコから生まれた仔虫の数およびその生存率を調べた。エサであるクロレラを毎日与え, 換水は仔虫のカウントを行なう 3 日おきに行なった。

6. 学生実習

オオミジンコとミカヅキモを使った生物応答試験の実習を 3 週にわたり, 津山高専 総合理工学科 先進科学系 4 年生 42 名に行なった。1 週目は動物性プランクトンであるオオミジンコが植物性プランクトンを採餌する様子の観察を行ない, 生態ピラミッドの生産者と消費者について考察させた。2 週目は学生たちが自ら出した化学廃液を段階的に希釈した液にオオミジンコとミカヅキモを曝露する生物応答試験を行なった。3 週目は生物応答試験を 1 週間行なった結果をまとめ, 環境について考察した。

7. 学生実験結果および考察

実験の結果を表したグラフ (図 2) から, ミカヅキモが negacon (廃液なし飼育水のみで育てたもの) と同様に増殖するためには 100 倍に希釈する必要があることがわかった。これは廃液 1L につき 100L の水が必要だと認識できる。オオミジンコを使った実験では濃度に依存した結果が明確に得られなかったが, 400 倍に希釈した廃液でも影響が出ていることがわかった。

今回の 3 週間にわたる実習から, 学生らは自ら出した廃液を処理せず流すことは生態系に大きく影響を与えてしまうと実感していた。また学生の実験レポートからは, 環境汚染を身近に感じた考察が多くみられた。先進科学系に所属している学生は実験を行うことが多く, 彼らが環境に影響を与える側に立っていることを深く認識させたと考えられる。

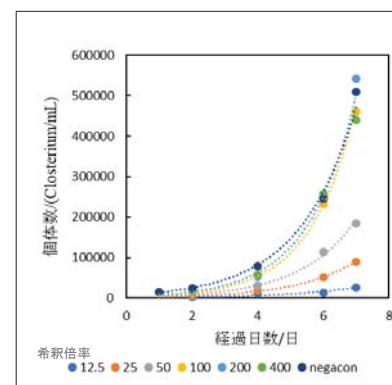


図 2 廃液の希釈倍率に伴うミカヅキモの個体数変化

8. 実習開発の考察と今後の課題

学生から得られた考察から, 今回の実習開発の目的である学生の環境問題に対する意識を高めること, またその理解を促せたと感じられた。学生たち自らが出した化学廃液を使用したことで「自分たちも環境を汚染しており, 環境汚染は身近で起きている」という考えを定着させ, さらに微量な化学物質が生態系に影響を及ぼすことを目にし, 生物分野を学ぶ者として環境問題に対する意識を高めることができたと考えられる。一方, 今回のオオミジンコによる試験の結果において, 廃液の影響は出ているが希釈倍率に伴わないものはいくつかみられた。この課題を解決すべく違うテーマの化学実験から出た廃液を使用することや濃度設定を見直し, 来年度の実習に向けて現在再構築している。

謝辞

本研究は, 日本学術振興会令和 03 年度科学研究補助金 (奨励研究 課題番号: 21H04058) の助成を受け実施いたしました。ここに感謝の意を表します。