

## 審査の結果の要旨

氏名 セビージャ ジャニス ベルトラン

都市周辺の水域生態系の保全を考えるに当たり、水質のみならず底質についても考慮が必要である。底質は有害物質の蓄積の場となり、底生生物への影響を介して生態系全体へ影響をもたらすことが懸念されている。特に重金属については全亜鉛に関する水生生物保全のための水質環境基準が平成15年に設定され、銅やその他の元素についても基準の検討が予定されているところであるが、底質については未だ基準に関する考え方も定まっていないのが現状である。底質そのものの有害性評価には生物を用いた手法が適用されるが、中でも2012年にISOにて標準化作業が完了した淡水性カイミジンコを用いた底質毒性試験法は、従来のユスリカ幼虫やヨコエビを用いた試験法よりもコンパクトな試験系を達成しただけでなく、必要なときに乾燥卵から孵化させて実験可能であるため日常の試験生物飼育の手間もなく、今後のより広範な利用が期待されている。しかしながら、底質毒性試験の結果を理解し、環境管理に役立てるためにはその機構に関する知見の集積が必要であり、特に固形物が多量にある環境に存在する底生生物が、汚染底質自体からの摂食曝露と、周辺汚染水からの水系曝露とのどちらからより大きな影響を受けているかの理解は基本をなすものである。しかしながら、その点について未だ体系的な知見は不十分である。

本論文は、「Effect of Heavy Metal Distribution in the Food Organisms to Freshwater Ostracod (*Heterocypris incongruens*) in Whole Sediment Toxicity Test (全底質毒性試験における淡水カイミジンコ (*Heterocypris incongruens*) に対する餌生物中の重金属分布の影響)」と題し、淡水性カイミジンコ *H. incongruens* を用いた底質毒性試験において、餌生物中の重金属の分布がどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的としている。より具体的には、重金属汚染された微細緑藻類 *Scenedesmus acutus*、*Chlorella vulgaris*、*Ankistrodesmus falcatus* の捕食者移行性の重金属の定量を行い、それらを用いたカイミジンコへの重金属の摂食曝露による毒性影響を明らかにし、水系曝露との比較を行うものである。さらに、カイミジンコへの重金属毒性に与える、餌の種類や光条件についても解析をしている。論文は8つの章で構成され、結

果に関する章は4～7章であり、特に6、7章が主たる結果となっている。

第1章では、研究の背景と目的、および論文の構成を述べている。

第2章では、文献レビューとして、底質毒性試験、水環境中の重金属、藻類への重金属摂取および毒性に与える因子、水生生物の重金属蓄積、藻類細胞中の重金属分画について、先行研究をまとめている。

第3章では、試験手法および化学分析の方法について示している。

第4章では、以降の章の基礎となる試験手法の変更の可能性について検討をしている。変更の可否判定には、ISO 標準試験手法における妥当性確認の基準を用いている。その結果、control底質として試薬として購入可能な石英砂が成長に影響は与えるものの許容範囲内であったこと、より現実の環境に近い16時間明/8時間暗条件でも基準を満たすこと、藻類 *C. vulgaris* および *A. falcatus*、市販魚餌でも投与量を調整すれば利用可能であること、が示されている。

第5章では、前章での予備的検討を踏まえ、餌の種類と光条件がカイミジンコの銅・亜鉛の水系曝露による毒性に与える影響を明らかにしている。標準の餌藻類である *S. acutus* や市販魚餌を投与した場合にはカイミジンコの亜鉛に対する感受性は光条件の変更によって影響を受けないのに対し、他の二種の緑藻類 *C. vulgaris* および *A. falcatus* の場合には毒性影響が明らかに変化した。一方、銅の場合には *S. acutus* 以外の餌では光条件が大きく影響を与えた。さらに、これら全ての実験で得られたLC50を総合し、カイミジンコ *H. incongruens* が銅よりも亜鉛に感受性が高いと結論している。

第6章では、上述の3種の藻類を異なる重金属濃度の培養液で10日間培養し、細胞内への銅・亜鉛の分布（細胞表面交換態、細胞内容存態、細胞内懸濁態）を定量している。*S. acutus* が摂取した亜鉛の大半は細胞内に存在（溶存態：5.9～200 μg/g、懸濁態：35～490 μg/g）し、*C. vulgaris* の場合には大半が細胞内懸濁態（46～1000 μg/g）であった。*A. falcatus* の場合は細胞表面交換態（3.5～330 μg/g）や細胞内懸濁態（99～650 μg/g）が多く存在した。銅は三種の藻類において主として細胞内容存態および細胞内懸濁態として存在した。これらの結果から、亜鉛については種による分布の差が認められたのに対し、銅については類似した分布となったと結論し、捕食者への影響が餌に依存する可能性を示唆している。さらに、仮想的な捕食者移行性画分として、細胞表面交換態と細胞内容存態の和を提案し、この考え方に従うと、亜鉛については420μg/Lの培養条件において36% (*S. acutus*)、33% (*C. vulgaris*)、55% (*A. falcatus*)が移行性となるのに対し、銅の移行性画分は *C. vulgaris* で12～25%と比較的高いが、*S. acutus* や *A. falcatus* では4～15%、5～8%と低くなることを示唆している。

第7章では、第6章で調整された汚染餌をカイミジンコに投与しその用量応

答関係を明らかにしている。*S. acutus* を用いた際には亜鉛含量の増加に対してカイミジンコの致死率に大きな増大が見られないのに対し、*C. vulgaris* ではより明確に毒性が増加したとしている。銅については、どちらの藻類を投与した場合でも、カイミジンコに対する致死毒性が明確に認められている。第 5 章の結果と照合すると、この汚染藻類による致死毒性の結果は、試験系の上澄みに存在する溶存態の銅や亜鉛の毒性では説明できず、明らかに摂食曝露に由来するものと結論づけられる。

第 8 章では、上記の研究成果から導かれる結論と今後の課題や展望が述べられている。

以上のように、本論文は、従来知見が大幅に不足していた底質毒性試験種の重金属の摂食曝露による影響に関する、室内実験に基づく貴重なデータを提供している。これは水系曝露のみが考慮されている現在の水環境管理に対し、重要な知見を与えるものである。また、固形物由来の銅・亜鉛濃度の影響を定量的に示す結果は、今後の当該毒性試験手法の結果を解釈する上で極めて有用な情報となると考えられる。本論文の成果は、今後の都市環境工学の学術の進展に大きく寄与することが期待される。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。