

## 水生生物による水質環境基準の複合毒性評価

小玉, 明子

九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門海洋生命化学講座水族生化学研究室

木下, 雄次郎

九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門海洋生命化学講座水族生化学研究室

石橋, 克巳

九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門海洋生命化学講座水族生化学研究室

山口, 邦子

九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門海洋生命化学講座水族生化学研究室

他

<https://doi.org/10.15017/21104>

---

出版情報：九州大学大学院農学研究院学芸雑誌. 56 (2), pp.145-152, 2002-02. 九州大学大学院農学研  
究院

バージョン：

権利関係：

## 水生生物による水質環境基準の複合毒性評価

小玉明子\*・木下雄次郎・石橋克巳\*\*  
山口邦子\*\*\*・中川久機

九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門海洋生命化学講座水族生化学研究室  
(2001年10月30日受付, 2001年11月20日受理)

### Multi-Toxicant Evaluation of Mixtures of Chemicals from among the Environmental Water Quality Standards in Japan Using Aquatic Organisms

Akiko KODAMA\*, Yujiro KINOSHITA, Katsuya ISHIBASHI\*\*,  
Kuniko YAMAGUCHI\*\*\* and Hisaki NAKAGAWA

Laboratory of Marine Biochemistry, Division of Marine Biological Chemistry,  
Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University, Fukuoka 812-8581, Japan

## 緒 言

わが国の公共用水域にはヒトの健康の保護を目的とした水質環境基準値が48種類の化学物質について設定されている。その水質環境基準は重金属、塩素系溶剤、農薬などの化学物質から成り、環境基準項目として26項目、要監視項目として22項目の化学物質についてそれぞれ基準値および指針値が設けられている。要監視項目の22項目は今後のデータの集積から環境基準項目への移行が判断される。しかし、この水質環境基準はヒトの健康の保護を目的とした基準であり、水生生態系への影響については考慮されていない。また、内海(1998)は、現在の水質環境基準は個々の毒性物質を単独に摂取したときの有害性を基に作成されており、複合作用についてはまったく考慮されていないことを指摘している。多数の有害物質が共存した状態での複合的な毒性評価について、Sprague(1990)は、環境水には多種類の有害物質が共存しており、単一の供

試生物種や単一の有害物質についての毒性評価を行うだけでは現実には即さないとし、水生生態系の保護のためには混合物質の複合毒性および多種類の水生生物による毒性の評価法の必要性を強調している。

本研究では、水質環境基準を構成する化学物質の複合毒性を、緑藻 *Selenastrum capricornutum* による増殖阻害試験および水生好気性微生物による糖消費阻害試験により評価した。なお、*S. capricornutum* は最近、*Pseudokirchneriella subcapitata* と名称が変更されているが、本研究では従来の名称で用いた。

## 材料および方法

### 1. 供試物質

緑藻の増殖阻害試験に用いた培地にはキレート剤の  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  が、水生好気性微生物(水生微生物)による糖消費阻害試験に用いた培地(希釈水)にはリン酸緩衝液が含まれていて、それぞれ金属類とキレート結合物質および沈澱物を生成する。本研究では、

\* 現在 株式会社シンコー

\*\* 現在 株式会社日本上下水道設計

\*\*\* 九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門海洋生命化学講座海洋資源化学研究室

\*\*\*\* Laboratory of Marine Resource Chemistry, Division of Marine Biological Chemistry, Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812-8581, Japan

金属類を除いた水質環境基準項目の出来るだけ多くの化学物質について試験することを心掛けた。本研究で試験した31種類の化学物質（化学物質の名称の後に\*のマーク）を Table 1 に示す。供試物質の原液として水質試験用試薬および残留農薬試薬（各々、和光純薬製）を用いた。なお、これら供試物質の原液は分散剤としてアセトニトリル、メタノールやアセトンが用いられている。そこで、分散剤対照区として用いたこれらの分散剤も和光純薬製であった。

## 2. 供試物質の混合試験液の調製および試験区の設定

環境基準項目、要監視項目、環境基準項目と要監視項目を合わせた、3種類の混合試験液を調製した。まず、環境基準項目の混合試験液の場合は13項目、要監視項目の混合試験液の場合は18項目について上述した各供試物質の原液を、ジメチルスルホキシド（DMSO、和光純薬製）で希釈しながら混合し、基準値および指針値の1000倍濃度の混合試験液を調製した。次に、緑藻増殖阻害試験用および水生微生物による糖消費阻害試験用の混合試験液は超純水により、エームス試験用

**Table 1.** Environmental water quality standards relating to human health in Japan. The chemicals used in the present study are indicated by an asterisk.

Environmental standard items		Items requiring close monitoring	
Item	Standard level (ppb)	Item	Guideline level (ppb)
Cadmium	10	Chloroform*	60
Cyanide	N.D.	trans-1,2-Dichloroethylene*	40
Lead	10	1,2-Dichloropropane*	60
Hexavalent Chromium	50	p-Dichlorobenzene*	300
Arsenic	10	Isoxathion*	8
Total Mercury	0.5	Diazinon*	5
Alkyl Mercury	N.D.	Fenitrothion*	3
PCB	N.D.	Isoprothiolane*	40
Dichloromethane*	20	Oxine-Copper*	40
Carbon Tetrachloride*	2	Chlorothalonil*	50
1,2-Dichloroethane*	4	Propyzamide*	8
1,1-Dichloroethylene*	20	EPN*	6
cis-1,2-Dichloroethylene*	40	Dichlorvos*	8
1,1,1-Trichloroethane* (ppm)	1	Fenobucarb*	30
1,1,2-Trichloroethane*	6	Iprobenfos*	8
Trichloroethylene*	30	Chlornitrofen	—
Tetrachloroethylene*	10	Toluene*	600
1,3-Dichloropropene*	2	Xylene*	400
Thiram*	6	bis(2-Ethylhexyl) phthalate*	60
Simazine	3	Nickel	—
Thiobencarb*	20	Molybdenum	70
Benzene*	10	Antimony	—
Selenium	10		
Nitrate- and Nitrite-nitrogen (ppm)	10		
Fluorine	800		
Boron (ppm)	1		

N.D.: Not detectable. The term "not detectable" refers to the fact that when the level of the chemical in the water sample was determined by the method designated by the Director General of the Ministry of the Environment, the result of the determination was below the fixed-amount limit of the said method.

の混合試験液はDMSOにより、さらにそれらを基準値および指針値の40倍の濃度になるよう希釈した。その際、環境基準項目、要監視項目、環境基準項目および要監視項目を混合した水質環境基準項目の3種類の混合試験液を調製した。調製した混合試験液の一定容量を供試培地に添加した試験用培地中の供試物質の濃度は最終的には水質環境基準値である。なお、各供試物質の基準値および指針値は異なるので、各供試物質の原液の希釈溶液を調製する場合、各供試物質のDMSOでの希釈率は異なった。ところで、各供試物質の原液には上述した分散剤が使用されているが、これらの分散剤も供試生物の緑藻の増殖および水生微生物による糖消費を阻害することが予想される。そこで、3種類の混合試験区それぞれに分散剤対照区を設けた。各分散剤対照区の分散剤混合液の調製は供試物質の混合試験液の調製手順に準じて行った。各分散剤対照区の各分散剤濃度は各混合試験液の分散剤濃度と最終的には同濃度であった。なお、混合試験液を超純水で置換した完全対照区を設けた。よって本研究では試験区として、環境基準項目試験区（13種類の供試物質含有）、要監視項目試験区（18種類の供試物質含有）および水質環境基準項目試験区（31種類の供試物質含有）を設け、さらにそれぞれの分散剤対照区、即ち環境基準項目分散剤対照区、要監視項目分散剤対照区および水質環境基準項目分散剤対照区、そして完全対照区を設けた。

### 3. 緑藻増殖阻害試験

#### (1) 供試藻

本研究で用いた緑藻 *S. capricornutum* は、財団法人地球・人間環境フォーラムから提供を受け、植え継いだ保存株である。この藻類は貧栄養から富栄養水域までの広範囲の淡水域に生息し、環境条件の変化による形態変化が少なく、培養が容易で安定した増殖が得られると言われている。

#### (2) 供試用培地

*S. capricornutum* の植え継ぎ保存および供試用培地として合成培地（高橋，1982；APHA *et al.*, 1989a）を用いた。その培地を、試験管（18×180 mm）に10.0ml 取り植え継ぎ保存用培地、100ml の三角フラスコに38.0ml 取り供試用培地とした。両容器ともパイレックス製である。両容器の培地はオートクレーブで滅菌し（2気圧，120℃，15分）室温で暗所に保存した。

#### (3) 増殖阻害試験法

上述した3種類の混合試験液、3種類の分散剤混合液および超純水の各1.0ml を供試用培地に加えよく攪拌した後、供試藻懸濁液を1.0ml 接種し（接種後の供試培地の最終細胞数 $10^4$  cells/ml）、72時間培養し、増殖阻害試験を行った。当然に、試験用培地中の供試物質の濃度は最終的には水質環境基準値である。なお、供試藻の接種懸濁液は、APHA *et al.*, (1989a) の報告に従い、対数増殖期の供試藻を接種懸濁液として準備した。培養条件は、室温22~24℃、白色蛍光灯を用い3,900~4,100lx を1日に12時間照射した。試験期間終了後、各試験用培地をよく攪拌し、光顕下でBurker-Turk 血球盤を用いて細胞数を計測した。増殖阻害試験は、上述したように3種類の試験区、それぞれ3種類の分散剤対照区および完全対照区に対して、各々3組を設け、その結果は3組の平均として表した。なお、供試用培地への混合試験液、分散剤混合液および超純水の添加、供試藻懸濁液の接種はクリーンベンチ（日立製、卓上型・PCV-750AP）内で行った。

#### 4. 水生微生物による糖消費阻害試験

水生微生物による糖消費阻害試験は生物化学的酸素消費量（BOD）測定法（APHA *et al.*, 1989b）を応用して行った。即ち、糖消費阻害試験では、試験容器として栓付きガラス瓶の代わりにシリコ栓付きの三角フラスコを用い、水生微生物による溶存酸素消費量の代わりに糖としてグルコース消費量を測定した。

##### (1) 植種液

植種液として福岡市東区の多々良川の堰の河川水を用いた。その河川水を室温20℃の暗室で24~36時間静置し、その上澄液を植種液とした。この植種液を本研究では水生微生物源として用いた。

##### (2) 植種希釈水

希釈水は上述したBOD測定法に準じ調製した。植種液50ml を希釈水で1 l に定容し、植種希釈水とした。この希釈水は前述したように本研究では培地に当る。

##### (3) グルコースおよびグルタミン酸共存植種希釈水の調製

グルコースおよびグルタミン酸（各々、和光純薬製）各1000ppmの混合溶液をそれぞれ30ppmになるように植種希釈水に加え、グルコースおよびグルタミン酸共存植種希釈水を調製した。なお、水生微生物による糖消費阻害試験を始めるに当り、グルコースの開始濃度を検討した。その結果、グルコース濃度が30ppm

以上では供試用培地が白濁するので、白濁しない最上限の濃度30ppmを試験溶液として用いた。上述した緑藻増殖阻害試験で用いた100mlの三角フラスコ(シリコ栓と共に乾熱滅菌済み)に、グルコースおよびグルタミン酸共存植種希釈水39.0ml取り、水生微生物による糖消費阻害試験に用いた。

#### (4) 糖消費阻害試験法

上述した3種類の混合試験液および3種類の分散剤混合液および超純水の1.0mlを、それぞれグルコースおよびグルタミン酸共存植種希釈水に加えよく攪拌した後、糖消費阻害試験を行った。当然に、この植種希釈水中の供試物質の濃度は最終的には水質環境基準値である。糖消費阻害試験は室温20℃の暗所に30~40時間静置した条件で行った。30時間経過後、2時間置きに糖濃度を測定し、最も糖消費量の速い試験区

(完全対照区)の糖濃度が数ppmにまで下がったところで糖消費阻害試験を終了した。糖濃度の定量はフェノール-硫酸法(Dubois *et al.*, 1956)で行った。即ち、糖消費阻害試験液1.0mlに5%フェノール水溶液(w/v)1.0ml、濃硫酸5mlを加え激しく攪拌し、波長490nmで吸光度を測定し、糖濃度を定量した。糖消費阻害試験は、上述したように3種類の試験区、それぞれ3種類の分散剤対照区および完全対照区に対して、各々3組を設け、その結果は3組の平均として表した。

## 結果および考察

### 1. 緑藻増殖阻害試験

試験期間最終日の供試藻細胞数( $\times 10^4$ cells/ml)は、完全対照区 $172.9 \pm 17.6$ 、環境基準項目試験区99.2

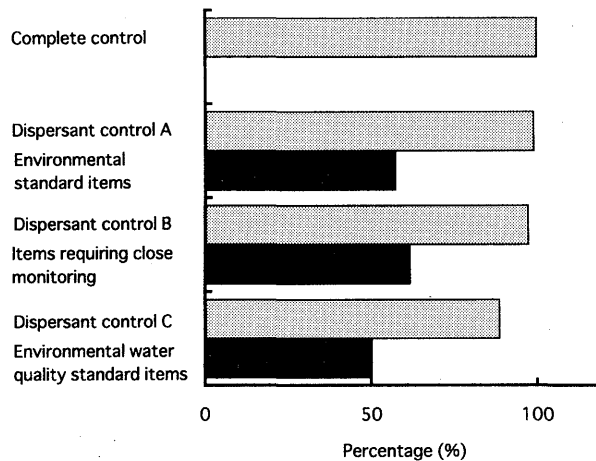


Fig. 1. The effects of mixtures of many chemicals from among the environmental water quality standard items on the growth of *Selenastrum capricornutum*. The green alga was cultured in medium under the various conditions containing each of three kinds of test solutions and dispersant controls. The concentrations and kinds of dispersants used for dispersant controls A, B and C were the same as those of each of the three kinds of test solutions, respectively. Ultrapure water was used instead of dispersants for complete control. The percentage of the number of cells of the green alga for each of the three kinds of test solutions and dispersant controls is shown, in comparison with that of the complete control.

±8.2, 要監視項目試験区106.6±19.2, 水質環境基準項目試験区86.6±17.0, 環境基準項目分散剤対照区171.4±14.8, 要監視項目分散剤対照区168.3±18.6および水質環境基準項目分散剤対照区152.9±16.1であった。これらの供試藻細胞数を基に, 完全対照区と比較した緑藻の増殖阻害を百分率で表した結果を Fig. 1 に示す。この結果から判断すると, 完全対照区と比べ, 環境基準項目分散剤対照区, 要監視項目分散剤対照区および水質環境基準項目分散剤対照区の順に, 供試藻増殖は少し阻害を受けたようである。この原因は, 完全対照区に比べ分散剤対照区は供試藻の増殖阻害を受けた順に分散剤の濃度が増加したからと考えられる。

一方, 供試藻細胞数の比は, 環境基準項目試験区57.3%, 要監視項目試験区61.7%および水質環境基準項目試験区50.1%であり, 供試藻の増殖がさらに阻害された。混合化学物質とともに共存する分散剤の影響が供試藻の増殖阻害に現れた結果と考えられる。なお, 各々の分散剤対照区の結果と比較すると, 分散剤対照区に対して, 供試藻細胞数の比(%)は, 環境基準項目試験区57.9%, 要監視項目試験区63.3%および水質環境基準項目試験区56.6%であり, 供試藻の増殖が混合化学物質により阻害されたことは明らかである。

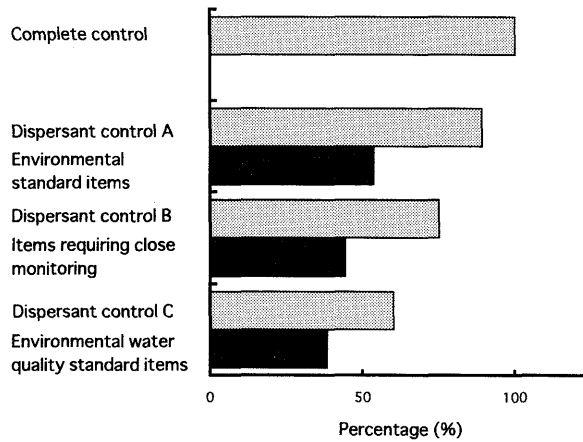


Fig. 2. The effects of mixtures of many chemicals from among the environmental water quality standard items on the glucose consumption of microorganism populations. The microorganism populations were cultured in medium containing a glucose concentration of 30 ppm under the various conditions containing each of three kinds of test solutions and dispersant controls. The concentrations and kinds of dispersants used for dispersant controls A, B and C were the same as those of the three kinds of test solutions, respectively. Ultrapure water was used instead of dispersants for complete control. The percentage of the amount of glucose consumption of the microorganism populations for each of the three kinds of test solutions and dispersant controls is shown, in comparison with that of the complete control.

## 2. 水生微生物による糖消費阻害試験

水生微生物による糖消費量 (ppm) は、完全対照区  $26.7 \pm 1.2$ 、環境基準項目試験区  $14.3 \pm 0.8$ 、要監視項目試験区  $11.8 \pm 1.0$ 、水質環境基準項目試験区  $10.2 \pm 0.9$ 、環境基準項目分散剤対照区  $23.8 \pm 1.5$ 、要監視項目分散剤対照区  $20.0 \pm 1.1$  および水質環境基準項目分散剤対照区  $16.0 \pm 1.5$  であった。これら糖消費量を基に、完全対照区と比較した糖消費阻害を百分率で表した結果を Fig. 2 に示す。この結果は緑藻増殖阻害試験結果と類似している。即ち、完全対照区と比べ、環境基準項目分散剤対照区、要監視項目分散剤対照区および水質環境基準項目分散剤対照区の順に、水生微生物による糖消費が阻害を受けた。この原因は、緑藻増殖阻害試験結果について考察したと同様に、完全対照区に比べ分散剤対照区は糖消費阻害を受けた順に分散剤の濃度が増加したからと考えられる。一方、糖消費量の比は、環境基準項目試験区 53.6%、要監視項目試験区 44.2% および水質環境基準項目試験区 38.3% であり、糖消費量がさらに阻害された。混合化学物質とともに共存する分散剤の影響が水生微生物による糖消費阻害に現れた結果と考えられる。なお、各々の分散剤対照区の結果と比較すると、糖消費量の比 (%) は、環境基準項目試験区 60.1%、要監視項目試験区 58.9% および水質環境基準項目試験区 63.7% であり、水生微生物による糖消費量が混合化学物質により阻害されたことは明らかである。

なお、Maron and Ames (1983) の報告に従い、エームス試験 (変異原性試験) 法による上述した3種類の混合試験液および分散剤対照区の変異原性の評価を行った。供試菌株はサルモネラ菌 TA100 株 (*Salmonella* Typhimurium TA100) である。その結果、代謝活性化の有無に関わらず、3種類の混合試験液および3種類の分散剤混合液に変異原性は確認されなかった。今回、エームス試験で用いた菌株は塩基対置換型の変異原物質を検出できる菌株であり、TA98 株などのフレームシフト型の菌株を用いれば変異原性が確認される可能性はある。

以上、緑藻増殖阻害試験および水生微生物による糖消費阻害試験結果から、水質環境基準を構成する化学物質が基準値および指針値の濃度で共存すると水生生物の生存にとって好ましくないと判断され、現在の水質環境基準の水生生物の繁殖の保護に対する安全性が疑われた。なお、両試験結果の評価においては、供試化学物質と分散剤との複合作用の可能性についても留意しなければならないのは当然である。さらに、水質

環境基準項目は48種類の化学物質から成るが、試験に供されたのは31種類の供試物質についてであり、本研究は水質環境基準についての完全な複合毒性評価試験ではない。

水生生態系を構成する生物群集の消費者である魚類および甲殻類に対し水質環境基準項目の単一物質の基準値および指針値だけでも有害な影響を及ぼすという報告がある。魚類血液中の5-アミノレブリン酸脱水酵素 (ALA-D) は魚類に対する水中鉛の慢性毒性を評価するための短期間で効果的な影響が発現する鉛汚染の指標酵素として有用である (Hodson *et al.*, 1977)。コイ *Cyprinus carpio* やギンブナ *Carassius auratus langsdorfii* 血液中の ALA-D を指標とした環境基準項目の水中鉛の基準値 10ppb への曝露試験結果から、次のことが指摘されている (Nakagawa *et al.*, 1995; Nakagawa *et al.*, 1997)。コイやギンブナを水中鉛濃度 10ppb に曝露すると、曝露期間とともにこれら魚類血液中の鉛濃度は上昇し、それに伴い魚類血液中 ALA-D 活性は低下した。この結果は、環境基準項目の水中鉛単一の重金属だけでも魚類へ慢性毒性を及ぼすことが懸念された。また、カドミウムに対する魚類の慢性毒性は、flagfish *Jordanella floridae* では 4.1-8.1ppb (Spehar, 1976)、brook trout *Salvelinus fontinalis* では 1.7-3.4ppb (Benoit *et al.*, 1976) で現れる。環境基準項目のカドミウムの基準値は 10ppb であり、カドミウム単一の重金属だけでも魚類へ慢性毒性を及ぼすことが懸念される。さらに、フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) の濃度 3ppb でオオミジンコ *Daphnia magna* を 21日間飼育すると 60% の繁殖阻害を引き起こすことが報告されている (Mayer and Sanders, 1973)。要監視項目の DEHP の指針値は 60ppb であり、単一の化学物質だけでもオオミジンコに有害な影響を及ぼすことが懸念される。以上のように、水質環境基準はヒトの健康の保護に関わる基準であり、基準値の作成にあたって水生生物への影響に関しては余り考慮されていないようである。

現実の環境水には膨大な種類の化学物質が存在し、多数の物質が共存した条件での水生生物への相加作用や相乗作用による有害物質の複合的な毒性が指摘されている。共存する重金属類間および重金属類と殺虫剤の Imidacloprid 間の複合作用について、朴ら (2000) は *D. magna* を用いた遊泳阻害試験および運動量解析から、相乗作用、拮抗作用および相加作用などの複合的な毒性作用の存在を報告している。また、水生

態系の生物相は、藻類などの生産者、甲殻類や魚類などの消費者およびバクテリアなどの分解者など多種類の水生生物で構成されるが、有害物質に対する感受性は大きく異なると考えられる。水生生態系の保護のためには、単一の有害物質についての毒性評価に基づいた基準値でなく、多種類の水生生物に対する混合化学物質の複合的な毒性評価に基づいた水質環境基準値の作成が望まれる。

## 要 約

本研究では、水質環境基準を構成する化学物質の複合毒性を、緑藻 *Selenastrum capricornutum* による増殖阻害試験および水生好気性微生物（水生微生物）による糖消費阻害試験により評価し、次の結果を得た。なお、環境基準項目試験区は13種類の化学物質、要監視項目試験区は18種類の化学物質、環境基準項目と要監視項目を合わせた試験区（水質環境基準項目試験区）は31種類の化学物質が、基準値および指針値の濃度で共存する条件下で試験を行った。分散剤の種類および濃度については試験区と分散剤対照区は同様にした。緑藻の増殖阻害試験の結果、供試藻細胞数の比（%）は、分散剤対照区に対して、環境基準項目試験区は57.9%、要監視項目試験区は63.3%、および水質環境基準項目試験区は56.6%であり、供試藻の増殖が阻害された。水生微生物の糖消費阻害試験の結果、糖消費量の比（%）は、分散剤対照区に対して、環境基準項目試験区は60.1%、要監視項目試験区は58.9%、および水質環境基準項目試験区は63.7%であり、糖消費量が阻害された。水質環境基準の基準値および指針値でも多数の化学物質が共存すれば、緑藻の増殖および水生微生物の糖消費を阻害することは明らかである。ところで、上述した3種類の混合試験液および分散剤対照区の変異原性の評価を行い、サルモネラ菌 TA100 (*Salmonella* Typhimurium TA100) を用いたエームス試験では、代謝活性化の有無に関わらず、変異原性は確認されなかった。以上の結果から、水質環境基準を構成する化学物質が基準値および指針値の濃度で共存すると水生生物の生存にとって好ましくない水環境と評価された。

## 謝 辞

本研究を行うに当たり、有益な御助言を賜りました福岡県南水道企業団の松本尚久氏、エームス試験法を御指導頂いた福岡県保健環境研究所の世良暢之氏に心より感謝の意を表します。

## 文 献

- APHA, AWWA, WPCF 1989a Toxicity test methods for aquatic organisms. In "Standard methods for the examination of water and wastewater", 17th ed., American Public Health Association, Washington DC., pp.8-1-8-50
- APHA, AWWA, WPCF 1989b Determination of organic constituents. In "Standard methods for the examination of water and wastewater", 17th ed., American Public Health Association, Washington DC., pp. 5-1-5-10
- Benoit, D. A., E. N. Leonard, G. M. Christensen and J. T. Fiandt 1976 Toxic effects of cadmium on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **105**: 550-560
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith 1956 Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**: 350-356
- Hodson, P. V., B. R. Blunt, D. J. Spry and K. Austen 1977 Evaluation of erythrocyte  $\sigma$ -aminolevulinic acid dehydratase activity as a short term indicator in fish of a harmful exposure to lead. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **34**: 501-508
- Maron, D. M. and B. N. Ames 1983 Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.*, **113**: 173-215
- Mayer, F. L. and H. O. Sanders 1973 Toxicology of phthalic acid esters in aquatic organisms. *Environ. Health Perspect. Exp. Iss.*, **3**: 153-157
- Nakagawa, H., T. Sato and H. Kubo 1995 Evaluation of chronic toxicity of water lead for carp *Cyprinus carpio* using its blood 5-aminolevulinic acid dehydratase. *Fisheries Sci.*, **61**(6): 956-959
- Nakagawa, H., H. Tajima, T. Sato and M. Watanabe 1997 Evaluation of erythrocyte 5-aminolevulinic acid dehydratase activity in the blood of crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*, as an indicator in fish of water lead pollution. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, **41**: 205-213
- 朴 明玉・岡村秀雄・羅 榮・青山 勲 2000 *Daphnia magna* に及ぼす重金属間および重金属と農薬の複合作用に関する研究。環境毒性学会誌, **3**(1): 23-32
- Spehar, R. L. 1976 Cadmium and zinc toxicity to flagfish, *Jordanella floridae*. *J.*



- Fish. Res. Bd. Can.*, 33: 1939-1945
- Sprague, J. B. 1990 Chapter 15, Aquatic Toxicology. In "Methods for Fish Biology", ed. by C. B. Schreck and P. B. Moyle, American Fisheries Society, Bethesda, pp.491-528
- 高橋正征 1982 藻類生産潜在力調査 (AGP 試験). 日本水質汚濁研究協会編: 湖沼環境調査指針. 公害対策技術同友会, 東京, 193-199頁
- 内海英雄 1998 バイオアッセイの体系. 鈴木基之・内海英雄編: バイオアッセイ 水環境のリスク管理. 講談社サイエンティフィック, 東京, 1-13頁

## Summary

This study was conducted in order to evaluate the combined action of chemicals on the growth of the green alga, *Selenastrum capricornutum* and on the glucose consumption of microorganism populations in medium where many chemicals from among the environmental water quality standard items relating to human health in Japan coexist. Tests were conducted under three conditions: (1) medium containing a mixture of the standard levels of 13 chemicals from among the environmental standard items (26 chemicals); (2) medium containing a mixture of the guideline levels of 18 chemicals from among the items requiring close monitoring (22 chemicals); (3) medium containing a mixture of the standard levels plus the guideline levels of a combination of the 31 chemicals from among the environmental standard items and the items requiring close monitoring (environmental water quality standard items). The three kinds of tests and their respective dispersant controls (A), (B) and (C) were the same as regards the concentrations and kinds of dispersants used.

The results are summarized as follows.

1) At the end of the growth inhibition tests, the number of cells of the test alga in the above tests (1), (2) and (3) had decreased to 57.9, 63.3 and 56.6%, respectively, in comparison with the findings for each of the dispersant controls. The growth of the test alga was inhibited under each of the three test conditions.

2) At the end of the glucose consumption inhibition tests, the amount of glucose consumption of the test microorganisms in the above tests (1), (2) and (3) had decreased to 60.1, 58.9 and 63.7%, respectively, in comparison with the findings for each of the dispersant controls. The amount of glucose consumption of the test microorganisms was inhibited under each of the three test conditions.

3) In addition, the mutagenicities under each of the three test conditions and those of each of the dispersant controls were examined by the Ames test using *Salmonella Typhimurium* TA100. However, mutagenicities were not observed either in the presence or the absence of the microsomal preparation (S9mix).

Judging from the results described above, it would seem that the current environmental water quality standards present some problems with regard to the protection of living aquatic organisms in public water areas, such as rivers, lakes, and coastal waters where the standard levels and the guideline levels of many of the chemicals from among the environmental water quality standard items coexist.