

(VII-18) 魚類の行動変化を指標とした有害物質への応答性の検討

山梨大学工学部土木環境工学科 学生会員 三水智也
山梨大学工学部土木環境工学科 正会員 中村文雄
(株) 日立製作所 (大みか工場) 依田幹雄

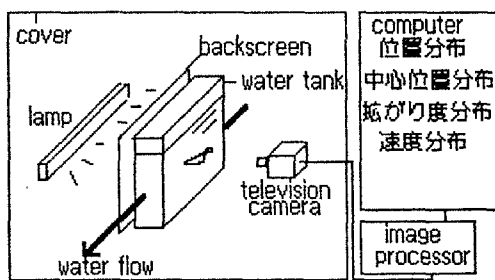
1. はじめに

水道の原水や工場排水等の中の毒性物質の有無を魚類の行動異常等から判定するバイオアッセイ法が水質監視目的に検討されてきており、一部試用されている段階にあるが、用いる手法により感度や精度が異なるといった生物センサー特有の問題もある。従来から魚類の行動を評価指標にした判定方法の研究が数多くなされてきたが、その感度は高いと考えられてきた。そこで本研究では、Cu濃度勾配を形成させた水槽中でのメダカの行動を画像解析することにより、メダカの銅に対する応答性を検討した。

2. 実験装置、材料及び実験方法

2.1 実験装置

実験装置は、有効容積3.5Lの実験水槽、照明装置と工業用ビデオカメラから成る撮像系、及び、画像処理装置と記録装置で構成される。図1、図2に実験装置の概念図を示した。実験水槽中でメダカが行動できる空間は200mm(縦)×200mm(横)×50mm(奥行き)とした。画像処理には「水質監視システム-IP2000(日立製作所)」を使用した。ここでは水槽の濃淡原画像から魚体を“1”(黒)、背景を“0”(白)に2値化し魚体を画像認識している。また、魚体の重心座標を基に計算されるデータは4種類(位置分布・中心位置分布・拡がり度分布・速度分布)あり、5分間隔で連続的に記録される。

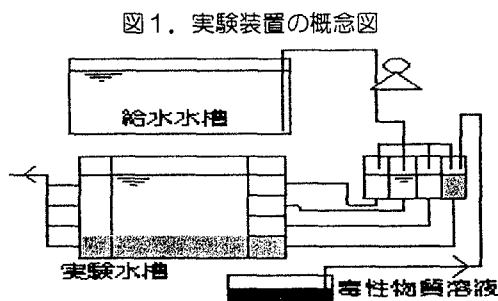


2.2 実験材料

供試魚として入手が容易な体長約3cm、体重約0.5gのヒメダカを用いた。また、毒性物質としては硫酸銅・五水和物を用いた。

2.3 実験方法

平常時でのメダカの行動を把握するために、実験用水が流量約800ml/minで循環供給される実験水槽にメダカを10匹入れ、その行動を5分間隔で連続的に撮影した。また暴露実験は2日間の平常時実験の後に実施したが、実験水槽底部のCu濃度を0.001~100mg/lまで順次増やしていく方法で行った。ここでは濃度レベルを21段階(0.001, 0.0025, 0.005, 0.0075, 0.01... 100mg/l)とし、各濃度段階での暴露時間はそれぞれ30分間とした。



3. 実験結果 及び 解析結果

実験水槽底部での銅の暴露濃度を順次増加させていくと、供試魚の行動に明らかな変化が現れることが認められた(図3)。

Surface

Bottom

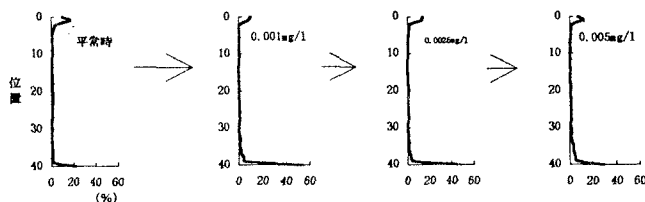


図3. メダカの行動の各Cu濃度での変化

キーワード 水質監視 重金属 バイオアッセイ 忌避・誘引行動

連絡先 〒400 山梨県甲府市武田4-3-11 TEL 0552-20-8593

ここで、図3は供試魚の実験水槽中での位置分布を示しているが、平常時には暴露直前から暴露6時間前までの5分間隔時系列データ(72データ)の平均を用い、各濃度段階での暴露時には各暴露時間30分間(6データ)の5分間隔時系列データの平均を用いた。この図から暴露開始(0.001mg/l)と共にメダカの実験水槽中での存在する位置は実験水槽底部へと移動している様子が認められる。これは見かけ上、誘引行動のように思われる。

また、メダカのCuに対する応答を定量的、かつ連続的に検出するために、以下の解析方法をとった。

すなわち、メダカの行動指標の各々(位置分布・中心位置分布・拡がり度分布・速度分布)について A_n を分級(0~40)とし、各時間、各分級での実験値を X_n とする。また各指標について暴露直前から暴露6時間前までの5分間隔時系列データ(72データ)の各分級での平均(P_nN)を平常値として扱う。このとき、

$$D^2 = \sum (X_n - P_nN)^2 / P_nN$$

で、算出される値を応答指標とした。次に、先に算出した D^2 値の平常時(暴露直前から暴露6時間前までの)の平均を μ とし、そのときの許容変動範囲を($\mu \pm 3\sigma$)と設定し、暴露6時間前から暴露終了時までのデータをこれに重ね、この許容変動範囲から逸脱した部分をCuへの応答として算出した。この結果を図4~図7に示した。

これらの図から各指標での応答の仕方は、例えば位置分布においては、離散的に現れているが、中心位置・拡がり度・速度分布においては、暴露開始濃度(0.001mg/l)から、ほぼ連続的に現れている様に、必ずしも同濃度で同程度の応答が現れるのではないが、全体的にはCuの流入に対しメダカは応答を示していると思われる。

しかし、ほぼすべての分布において平常時に無視できない異常が現れている。これは平常時の分布形のばらつきが大きいためと考えられる。

4. まとめ

以上のことから、本研究内の解析方法によってCuへの応答を0.001mg/lから検出できたため、水質監視方法としての可能性があるように思われた。

また、今後は応答の信頼性および再現性の向上のために平常時の範囲の設定方法と、供試魚および解析方法自体についての検討を行っていく必要があると考えられる。

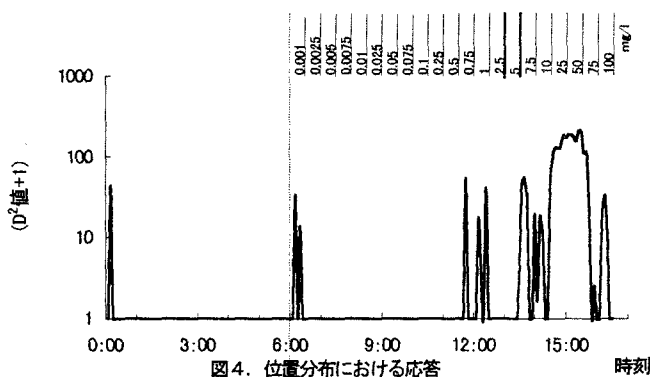


図4. 位置分布における応答

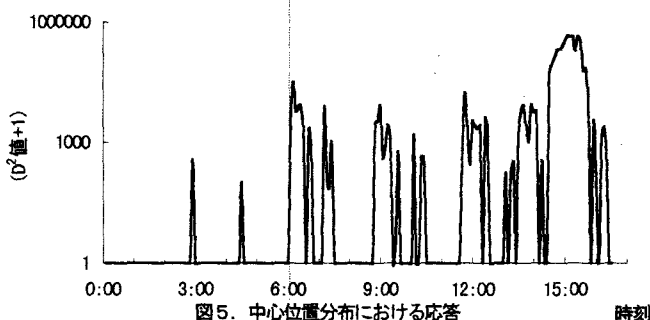


図5. 中心位置分布における応答

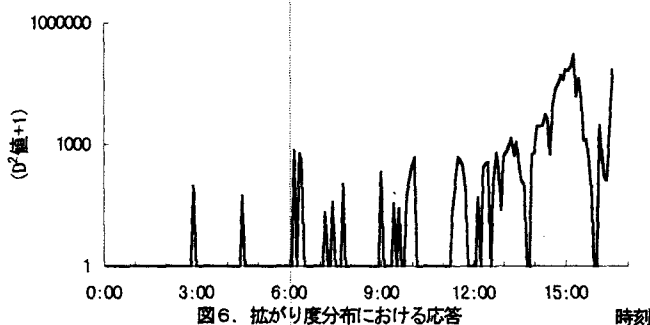


図6. 拡がり度分布における応答

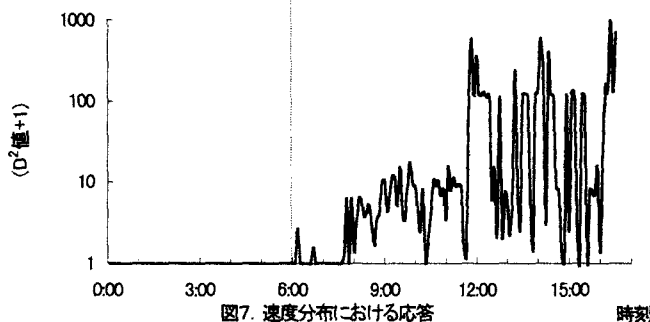


図7. 速度分布における応答