

B-22 ヒメダカとヌマエビを用いた濃縮毒性試験の水生生物生息状況に対する指標性の検討

Study on the validity of a toxicity test using concentrated river water with *Medaka* and *Neocaridina denticulata* as an index of aquatic habitat condition in rivers

小田臨*, 関根雅彦**, 浮田正夫**, 今井剛**, 樋口隆哉**

Nozomu ODA*, Masahiko SEKINE*, Masao UKITA*, Tsuyoshi IMAI*, Takaya HIGUCHI*

ABSTRACT: A new toxicity test using concentrated river water and *Oryzias latipes* (Medaka) larva had been proposed by Urano et al. The purpose of this research is to clarify the relationship between this toxicity test and aquatic habitat conditions in rivers. We have already reported that two hours or shorter of Median Lethal Time (LT₅₀) and Median Effect Time (ET₅₀) of *Oryzias latipes* larva might cause deterioration of aquatic habitat. In this research, we newly employ *Neocaridina denticulata denticulata* (freshwater atyid shrimp) as test creatures. By using *Neocaridina denticulata denticulata* together with *Oryzias latipes*, we can explain the difference of the pollution sources in urban area and rural area. Twenty five hours or shorter of Median Effect Time (ET₅₀) of *Neocaridina denticulata denticulata* might cause deterioration of benthic animal habitat in clean water. From a continuous survey, the sensitivity of this method is high enough to sense the effluent of pesticides in the concentration level of no damage on fish and benthic animal habitat condition.

KEYWORDS: toxicity test; *Oryzias latipes*; *Neocaridina denticulata denticulata*; aquatic habitat; pesticide

1 研究背景・目的

近年、微量有害物質による生物の異常が顕在化しており、生態系の保全が重要視されている。2002年に環境省は「水生生物の保全に係る水質目標について」として、81物質を優先的に検討すべき物質として選定した。しかし、環境中の個々の有害物質の濃度はきわめて低いことが多く、生物の生息状況との関連を把握することはかならずしも容易とは言えなかった。一方、化学汚染物質に対して感受性が高いヒメダカ仔魚を用いた簡易、迅速で再現性の高い河川水濃縮毒性試験が浦野らにより提案された。この方法は、原水の100倍濃縮で急性毒性が検出できる場合には、原水に慢性毒性がみられる場合が多いという経験的知見に立ち、濃縮河川水の急性毒性試験を行うことで河川水の慢性毒性を判定しようとするもので、長期間の曝露により影響されると考えられる河川の水生生物生息状況となんらかの相関が見られることが期待される。筆者らこの試験方法に着目し、昨年度には、ヒメダカ仔魚を用いた河川水濃縮試験が河川の甲殻類や魚類の生息状況を説明できること、またこの試験結果は都市域の人間活動との相関が強いことを報告した²⁾。

本報告では、新たにミナミヌマエビを供試生物に加え、農薬など都市域とは異なる有害物質汚染と水生生物の生息状況との関係が説明できるかどうかを調査した。また、雑佐川で農薬の流出状況を把握するため1ヶ月間連続調査を行った。

表1 毒性試験条件

	ヒメダカ仔魚	ヌマエビ
使用する供試生物	孵化後48~72時間後	生後3ヶ月程度
濃縮率	100倍	25倍
試験水量	20mL × 2系列	100mL × 2系列
試験個体数	8尾 × 2系列	7尾 × 2系列
試験曝露時間	48時間	
水温	25 ± 1℃	
光照射時間	16h/d	

* 山口大学大学院理工学研究科(Graduate School of Science and Engineering, Yamaguchi University)

** (学)香川学園宇部環境技術センター

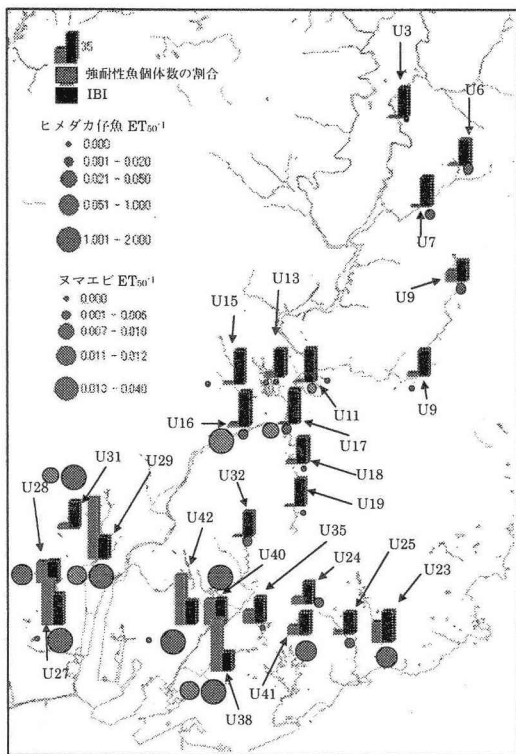


図1 宇部市のIBIと強耐性魚個体数割合

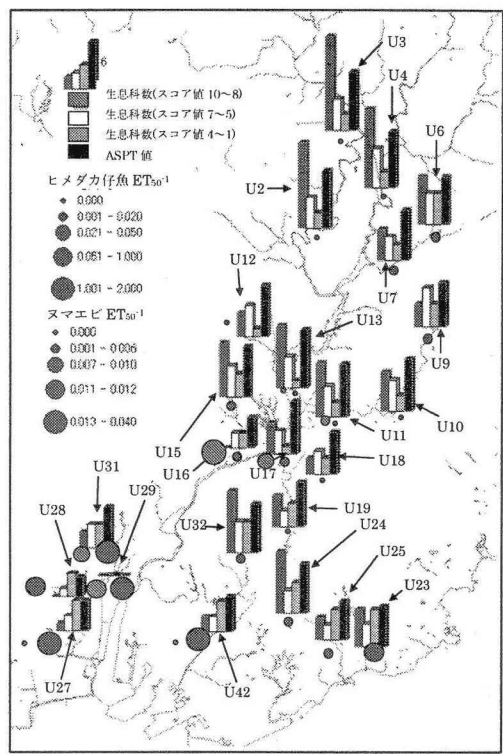


図2 宇部市のASPT値と底生動物生息科数

2 ヒメダカ仔魚とヌマエビを用いた濃縮毒性試験

2.1 調査対象地点：採水期間は主に農地を対象としたU11、U13、U16、U19は夏季に、主に市街地及び住宅地を対象としたU28、U29、U31、U38、U42は冬季とし、計11地点をミナミヌマエビとヒメダカ仔魚を供試生物として濃縮毒性試験を行う調査対象地点とした。

2.2 河川水濃縮方法及び毒性試験方法：河川水濃縮方法は多孔質ポリスチレン樹脂カートリッジSep-Pak Plus PS-2による固相抽出法を採用した。ヒメダカは100倍、ヌマエビは25倍濃縮で試験した。毒性試験条件を表1に示す。曝露開始から1、2、3、6、12、24、48時間後に死亡数、遊泳障害数を観察した。死亡した仔魚、エビはその都度除去した。

2.3 毒性試験評価方法：本研究では、毒性試験結果から得られた遊泳障害率と死亡率を正規分布関数で近似し、得られた平均 μ を半数致死時間(以下 LT_{50} :Median Lethal Time)、半数障害時間(以下 ET_{50} :Median Effect Time)とし、さらに LT_{50} 、 ET_{50} の逆数を取り、 LT_{50}^{-1} 、 ET_{50}^{-1} とすることで定量化した。

3 水生生物生息状況と濃縮毒性の関係

魚類生息状況調査の各地点のIBI(生物保全指数; Index of Biotic Integrity)の得点と強耐性魚個体数が占める割合を毒性試験結果とあわせて図1に示す。図1より、下水道整備されていない市街地の毒性が高い地点ではIBIは低く、強耐性魚個体数の割合が高い傾向があった。中流部のU11、U15、U16、U17において、IBIは最も高く、これらの地点のヒメダカ仔魚の毒性はほとんどないため、魚類の生息環境は優れていると考えられる。

大型底生動物の生息状況調査の各地点のASPT値(平均スコア値; Average score per taxon)と清れつな河川に生息する底生動物(スコア値10~8)、少し汚濁が進んだ河川に生息する底生動物(スコア値7~5)、汚濁

が進んだ河川に生息する底生動物（スコア値4～1）の各地点の生息科数を毒性試験結果とあわせて図2に示す。ヒメダカ仔魚、ヌマエビの毒性がともに低かった U11、U13、U17 は ASPT 値が高く、底生動物の生息環境は優れていると考えられる。しかし、ヌマエビの高い毒性が検出された U16 では、ASPT 値が低く、スコア値が高い底生動物は少なく、農薬によって底生動物の生息科数が減少していると推測され、この程度の毒性が検出されると清れつな河川に生息する底生動物の科数が減少していくと考えられる。

4 雑佐川における連続調査

農薬が河川水中にどの程度流出しているかを調査するため、雑佐川（U7 下流）に調査地点を設け、1ヶ月間河川水を採水し、ヒメダカ仔魚とヌマエビを用いて濃縮毒性試験を行った。調査期間は8月4日から8月29日まで25日間行った。採水は1日1回とし、採水時間は12時から16時の間に行った。連続調査と桜山観測所の降水量の結果を図3に示す。8月8日、15日に高い毒性が検出され、降雨により大量の農薬が流出したと考えられる。毒性のピークは上旬、中旬、下旬に現れており、降雨日の付近に毒性のピークが現れる傾向が見られた。ヒメダカの濃縮毒性がわずかであるが毎日検出され、生活雑排水の流入による毒性の可能性が考えられる。ヌマエビの毒性が最も高かった8日でも平水時に採水した U16 の毒性より低く、12日の平水時に採水したときの毒性と U16 を比べると、雑佐川のほうがはるかに低い毒性となる。本調査地点の上流にある地点（U6、U7）の水生生物生息状況調査結果（図1、2）によると魚類、底生動物ともに生息環境は良好であり、曝露される農薬量が雑佐川で検出された程度なら、魚類、底生動物ともに影響が無いと考えられる。一方、平水時に U16 程度のヌマエビ毒性が検出されると底生動物は減少していくと推察される。

5 まとめ

- ヒメダカ仔魚にヌマエビの濃縮毒性試験を加えることで、農薬と都市部の有害物質汚染状況の違い、生物生息状況の違いが説明できた。
- ヌマエビの毒性が U16 で検出された $0.04 ET_{50}^{-1}$ 程度になると、清れつな河川に生息する底生動物の科数は減少していくと推察された。
- 連続調査より、魚類や底生動物の生息状況には明確な影響が現れないような濃度レベルの農薬の流出も本手法で検出可能であることが明らかとなった。

本研究は(財)河川環境管理財団のご支援を受けた。記して謝意を表する。

参考文献：

- 1) 浦野紘平（横浜国大 工）：化学物質安全特性予測基盤の確立に関する研究(第1期)成果報告書 平成 9-11 年度,202-217,2000
- 2) 小田臨, 関根雅彦, 浮田正夫, 今井剛, 樋口隆哉. 河川の水生生物生息状況に対する濃縮毒性試験の指標性の検討. 環境工学研究論文集, 41, 419-427, Nov. 2004.

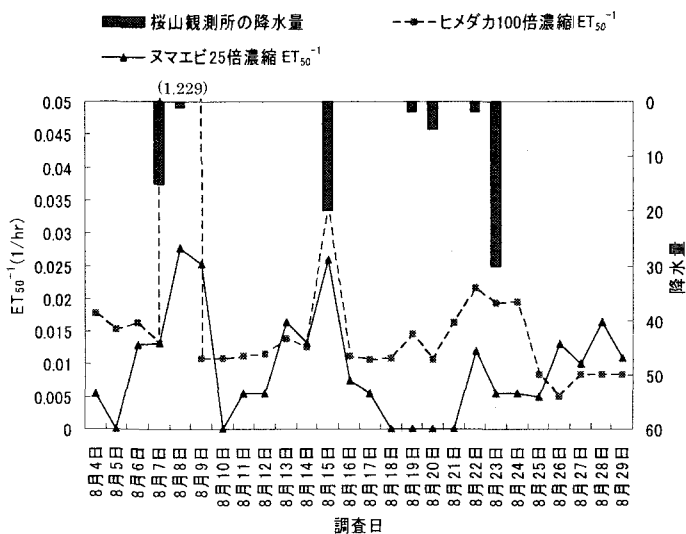


図3 雑佐川連続調査結果(ET_{50}^{-1})と桜山観測所の降雨量