

濃縮毒性試験による水生生物生息環境評価のための基礎的検討

日本国土開発株式会社 正会員 ○二井大嘉 山口大学工学部 学生会員 平野一暢
 山口大学工学部 正会員 関根雅彦 山口大学工学部 正会員 浮田正夫

1. 研究背景及び目的

筆者らはかねてより河川改修などの人間活動が魚類に与える影響を研究してきた。これまでには河川改修による水深や流速の変化などの物理的側面のみに注目してきたが、河川改修の住民説明会などで住民から常に指摘されるのは水質汚染による魚類の減少である。ところが、水質と魚類の関係は、pHなどのごく限られた水質項目以外はほとんどわかっていない。河川水中の個々の物質の濃度は非常に低いが、極めて多数の化学物質が同時に含まれている。それらの複合的な毒性も考えられるため、生物の応答を利用して総括的毒性評価の可能性を有するバイオアッセイが注目されている。

近年、ヒメダカ仔魚を用いた簡易、迅速な毒性試験が浦野らにより開発されているが、試験結果と実際の河川における水生生物生息状況との関係はまだ明らかになっていない。そこで本研究では新しい河川水質の評価方法と実際の河川の水生生物生息状況との関係を明らかにすることを目標とし、その第一歩として、筆者の属する研究室で水生昆虫および魚類の生息状況を調査している河川水のヒメダカ仔魚に対する毒性を調べ、基礎的データの収集を行った。

2. 実験方法

2.1. 産卵条件、卵培養条件

90cm (90×45×45) ガラス水槽を14区画に区切り、それぞれの区画に、ヒメダカ雌雄を各1尾ずつ放し水温 28±1°C、光照射時間 16h/d で飼育し、産卵させた。飼育水は活性炭処理した水道水を用い、水温 25 ±1°C、光照射時間 16h/d で飼育し換水は1回/週、1/3~1/2 量とし給餌は1日3回行った（給餌量、約 5mg/匹）。採取した卵は卵密度が 1mg/L 以下になるように活性炭処理した水道水を張ったアルミバットに入れ、インキュベータ内で水温 25±1°C、光照射時間 16 h/d で培養を行い、孵化させた。孵化した仔魚は他のアルミバットに放し、卵培養と同条件で飼育した。

2.2. 河川水濃縮方法

表1に採水を行った地点と水質を示す。河川水の採取部位はほぼ流心の表層とし約 10L 採取した。採水した水を 1 μm ガラスフィルターで濾過し、これを試料水とした。濃縮用コンセントレーターを用いて、コンディショニングし2本連結した多孔質ポリスチレン樹脂カートリッジ (Sep-Pak Plus PS-2) に、試料水 5 L を通水した。それぞれアセトン 10mL で脱離し、窒素気流下でアセトンを蒸発させ、200 μL (25000 倍) まで濃縮した。これを活性炭処理した水道水で 50mL まで希釈し、仔魚試験に供した¹⁾。

2.3. 仔魚試験

孵化から 48 時間程度経過するまでは毒性に対する感受性は時間経過につれ変化するため、48~72 時間経過した仔魚を使用した。暴露時間は 48 時間とし、換水は行わないこととした。試験条件は 25±1°C、光照射時間 16 h/d、残留アセトン濃度 100mg/L 以下、試験個体数は 10 尾×2 系列とし、希釈水には活性炭処

表1 河川水採水時の水質

測定地点	測定日	天候	水温 (°C)	pH	DO (mg/L)	濁度 (ppm)	電気伝導率 (ms/cm)
河川A(食品加工工場上流側)	2002/2/1	晴れ	8.3	7.91	11.42	7	0.304
河川A(食品加工工場下流側)	2002/2/1	晴れ	8.2	7.88	11.20	6	0.305
河川B(ホタル生息地)	2002/2/14	曇り	8.4	9.36	13.97	8	0.281
河川B(河川A合流前)	2002/2/14	曇り	9.1	7.79	11.15	3	0.336
河川A(河川B合流後)	2002/2/14	曇り	7.8	7.85	11.51	4	0.253
河川C	2001/12/10	晴れ	11.8	7.63	9.41	9	0.306
河川A(河川C合流前)	2002/1/3	曇り	4.4	7.30	12.35	2	0.241
河川A(河川C合流後)	2001/12/11	晴れ	11.4	7.65	9.61	9	0.286
河川D(河川E水系)	2001/12/18	晴れ	7.6	7.32	10.88	29	0.169
河川E	2001/12/18	晴れ	8.0	7.27	12.22	7	0.182
用水路A(河川E水系)	2001/12/18	晴れ	9.4	7.18	10.97	10	0.145
湖沼A	2001/12/10	晴れ	11.2	7.91	10.05	10	0.221
河川F	2002/2/4	曇り	6.1	7.15	11.95	17	0.384
河川G	2002/1/2	雪	5.1	8.21	13.49	5	0.212
河川H	2001/12/18	晴れ	11.7	7.37	10.37	4	0.391
河川I	2002/1/17	晴れ	11.2	7.33	10.92	23	0.141
河川I用水路B	2002/1/17	晴れ	11.4	7.52	10.96	5	0.142
河川I用水路C	2002/1/17	晴れ	11.4	7.97	8.82	6	0.140
河川J	2002/2/19	雪	7.4	7.37	14.25	10	0.186

理した水道水を用いた。試験濃度は多くの化学物質において慢性毒性試験での最大無影響濃度と急性毒性試験での半数死亡濃度 (LC50) との差が 100 倍程度であることから¹⁾、100 倍濃縮とし、ガラスシャーレ ($\phi 90\text{mm} \times 20\text{mm}$) に濃縮した河川水を 25mL (2 系列+対照区) 入れ、1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 時間後に観察した。測定項目は死亡数、遊泳障害数とした。また観測時に死亡魚は取り除き試験区ごとに死亡数と遊泳障害数を記録した。評価方法は死亡率【(試験区 1 における累積死亡数 + 試験区 2 における累積死亡数) / 総仔魚数 (20) × 100】、遊泳障害率【(試験区 1 における遊泳障害 + 試験区 1 における累積死亡数 + 試験区 2 における遊泳障害 + 試験区 2 における累積死亡数) / 20 × 100】とした。

3. 実験結果および考察

毒性試験の結果を図 2 に示す。ヒメダカ仔魚に影響の少ない川と顕著な悪影響があらわれる川がはっきりみてとれる結果になった。その中でも河川 B、河川 C、河川 H で顕著な悪影響があらわれた。

毒性試験とホタル観測数との関係を図 2、3 に示す。ゲンジボタル生息地とヘイケボタル生息地を比べてみるとゲンジボタル生息地がヒメダカに対する毒性は低くなっている、ヘイケボタルは沼などの止水域にも生息していてゲンジボタルの生息している環境の方が良いと言われている。またヘイケボタル生息地では観測数と死亡率が反比例となっている。このようにサンプル数は少ないものの毒性試験とホタル生息状況との間に相関がみられた。

カワニナと毒性試験の関係を図 4 に示す。カワニナとの関係はカワニナの体長が 0~2cm のものと 2cm 以上のものがかたよりなく確認されたところでは死亡数が低くなっているものの、観測されなかったところでも死亡率が低いことや死亡率の高い河川 H で 0~2cm のカワニナが比較的多数確認されたことなどから、さらに多くの地点での毒性試験および生息状況の把握が必要であると考える。

4. 今後の課題

ヒメダカ仔魚を用いた毒性試験の有効性を確立するため、多くの地点で毒性試験を行い、同時に水生生物の生息状況の把握も行う必要がある。

参考文献

澤井淳、大久保博充、亀屋隆志、浦野紘平

ヒメダカを用いた水中汚染物質の毒性評価に関する研究（第 8 報）仔魚毒性試験による河川水管理方法の提案、第 35 回日本水環境学会年回講演集、p115、2000

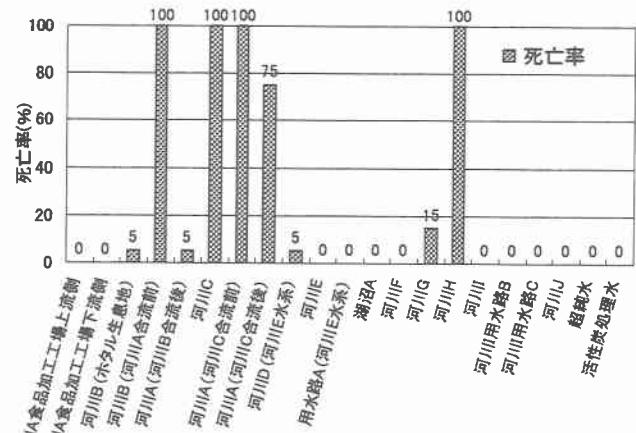


図 1 濃縮毒性試験結果

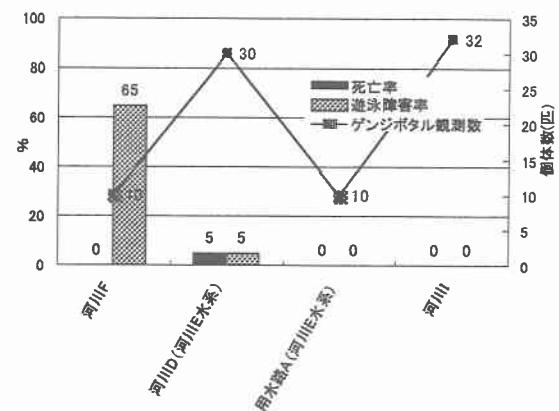


図 2 ゲンジボタル生息地における死亡率・遊泳障害率

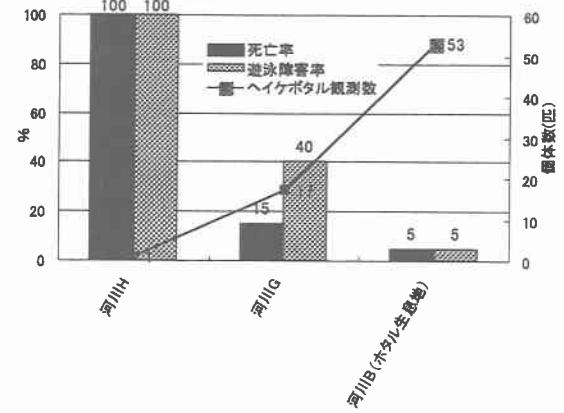


図 3 ヘイケボタル生息地における死亡率・遊泳障害率

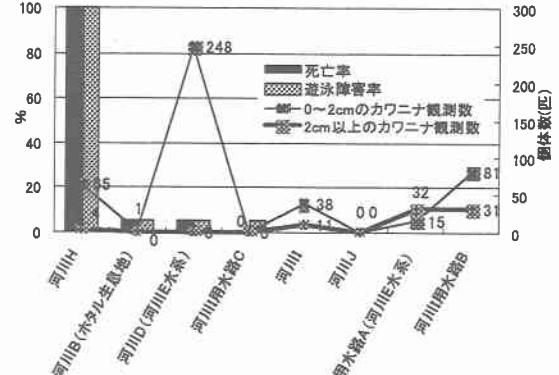


図 4 カワニナ生息地における死亡率・遊泳障害率