

水生生物への生態毒性試験 (2)

宮 垣 融 菊 地 幹 夫 上 野 英 世
(水 道 局)

1 はじめに

水域に多くの種類の生物が生息することは、「うるおいのある水辺環境の創造」にとって一つの大きな条件である。このため有機汚濁の防止とともに水生生物に有害な物質による水質汚染を防止することが必要である。生態系を構成する多様な生物がそれらの持つ生産・代謝・分解などの機能を果たしていることは、その水を利用する人間にとっての安全を確保することにもつながる。したがって、水域に排出される水の安全性を確認し、また水質汚染をおこす可能性のある化学物質についてその安全性を検討することが必要となる。

このためには、まず対象生物の飼育技術に習熟し、次に観察や計測などによる曝露試験の結果を評価する基準を設けることにより、水生生物に対する影響の評価手法を確立することが必要である。そしてこの手法を化学物質の毒性チェックや、工場などの排水のモニタリングと規制・指導への適用を検討する。

本報はこの研究の中で前報に引き続き水生生物（魚類・甲殻類・藻類）に対する影響評価の検討経過を報告する。

2 ミジンコを用いる慢性毒性試験(繁殖試験)の検討

化学物質の生態影響評価について、OECD（経済協力開発機構）ではテストガイドラインを作成し、各国の化学品の規制を統一しようとしている。その中で甲殻類であるミジンコについては遊泳阻害試験と繁殖試験がある。日本では遊泳阻害試験が日本工業規格 JIS K 0229「化学物質などによるミジンコ類の遊泳阻害試験方法」に採用されている。

OECDの繁殖試験方法では、生後24時間以内の仔虫を用いて、1濃度区あたり40頭（4等分）とし、飼育水量は1頭について少なくとも40mlで実験し、産仔回数が少

なくとも3回目までの合計産仔数で毒性の評価を行うこととしている。しかしこの方法では、ミジンコ10頭の産仔時期が同調するとは限らないため、産仔回数が計数できなくなる恐れがある。

そこで今回はOECD方式の集団飼育と産仔数の計数に有利な1頭ずつの個別飼育で繁殖試験を行った場合、産仔時期及び産仔数にどのような違いが現れるか検討した。

(1) 試験方法

供試生物にはオオミジンコ (*Daphnia magna*) を用いた。環境条件としては、飼育密度の他はOECDの方法に準拠して、以下のように実施した。水温は20℃に設定し、照明は明期16時間、暗期8時間の周光条件とした（照度900~1800 lux）。溶存酸素は試験開始直前にミジンコを入れない状態で飽和にした。飼育水には水道水を活性炭で脱塩素して使い、48時間毎に1回換水した。餌料には緑藻のムレミカヅキモ (*Selenastrum capricornutum*) を試験水中の緑藻細胞数が 4×10^5 cells/ml となるようにして毎日1回与えた。供試生物の飼育区画は1, 5, 10, 20頭とした。飼育水量と容器は、1頭あたりの水量を50mlとしてそれぞれの頭数に応じた水量とし、水量の2倍の容積のガラスビーカーを用いた。試験の期間は21日間とし、毎日親を除去した後には仔虫を集めて計数した。この間に3回以上の産仔が観察された。

(2) 結果と考察

最初の産仔は試験開始後7~8日で見られ、その後2~3日毎に産仔を繰り返した。1, 5, 10または20頭の各区画の3回産仔までの産仔数の平均値はt検定の結果有意な差とは認められず、産仔数は飼育頭数に影響されないことがわかった（表1）。

集団飼育では、同一容器内の親虫の産仔時期がわずかながらずれていたため、産仔回数を測定することができないものがあつた。一方、1頭飼育では個体毎に産仔開

表 1 産仔 3 回までの 1 頭当り合計産仔数

区画 (頭)	平均 (最大~最小)	試験容器数
1	78.9 (99 ~65)	10
5	63.4 (73.2~57.6)	4
10	68.2 (72.9~64.7)	4
20	73.3 (73.8~72.8)	2

始日がずれても産仔の回数を正確にカウントできるため、毒性の評価は 3 回産仔までの合計産仔数で検討するという前述の条件を満たすことができた (図 1)。さら

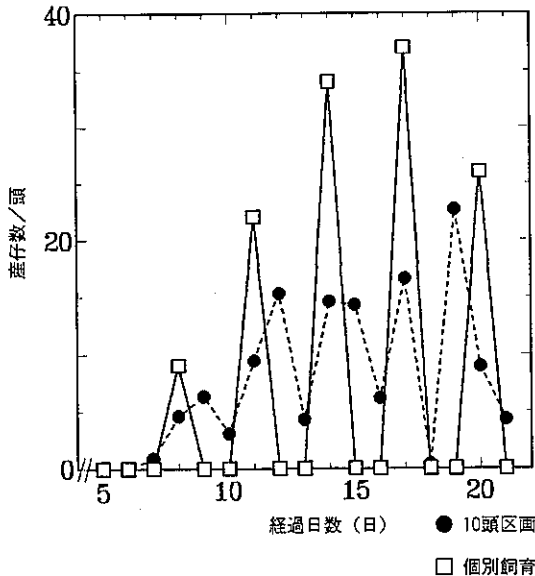


図 1 個別飼育と集団飼育での産仔状況

に、飼育個体に致死等の異常がおきてもその影響は 1 頭だけですむという利点があった。これらのことから繁殖試験には個別飼育が望ましいと考えられた。なお最近の OECD での検討状況によれば、1 濃度区あたり 10 頭を 1 頭ずつ 10 水槽に分けて飼育するという改定案が提案されている。

3 魚類を用いた急性毒性試験

魚類は水産資源あるいはつり等の対象としてなじみの

深い生物であり、かつ水生生態系で消費者として上位にある。このため水生生態系の保全を目的とした毒性試験の対象生物としてはまず第一の候補である。

河川水から検出される水生生物にとっての毒物については種々の調査が行われてきたが、魚毒性の強いものはアンモニア、シアン、農薬、界面活性剤等であることがわかってきている。そこで本年度はまずアンモニアの急性毒性を調べることにした。東京都内でアンモニアによる汚染が問題となる地点は河川の中下流域であり、温水魚の生息する地域であることから、試験魚としてはコイとヒメダカを用いた。なお水の pH が高くなるとアンモニアの毒性は高くなることがわかっているため、河川水で観察される pH 8 付近で試験を行った。また昨年度の調査から農薬のキャプタンが冷水魚であるニジマスの仔魚に強い急性毒性を示すことがわかっているため、本年度は温水魚のモツゴについて試験した。

(1) 試験方法

日本工業規格 JIS K 0102 「工場排水試験方法」に準じて行い、半数致死濃度 LC 50 を求めた。試験条件の詳細は表 2、3 に示した。

(2) 結果と考察

アンモニアの急性毒性試験の結果を表 2 に示した。試験水の水量は JIS K 0102 で定める「魚体重 1g 当たり 1 ℓ 以上」としたが、溶存酸素は JIS K 0102 で定める「4 mg / ℓ 以上」をわずかに下回る 3.8mg / ℓ となった濃度区があった。また試験水の pH は 8.0 に調整したが、pH は時間とともに低下して換水時の 24 時間後には pH 7 台に

表 2 塩化アンモニウムの急性毒性試験結果

魚	試験条件	LC50, mg-N / ℓ	
		48h-LC50	96h-LC50
コイ稚魚 孵化後 3 週 体重 平均 0.53g 全長 3.6cm 体長 2.8cm	人工軟水 (硬度 25mg / ℓ) 水温 22℃ pH 7.1~8.0 溶存酸素 3.8mg / ℓ 以上 試験魚数: 各濃度区 7 尾 試験水は 24 時間毎に全量を交換した	84	73
ヒメダカ成魚 体重 平均 0.24g 全長 3.0cm 体長 2.5cm	人工軟水 (硬度 25mg / ℓ) 水温 22℃ pH 7.5~8.0 溶存酸素 6.0mg / ℓ 以上 試験魚数: 各濃度区 10 尾 試験水は 24 時間毎に全量を交換した	71	65

表3 キャプタンの急性毒性試験結果

魚	試験条件	LC50, mg/ℓ	
		24h-LC50	48h-LC50
モツゴ仔魚 孵化後1日 全長 0.5cm	人工軟水 (硬度25mg/ℓ) 水温20℃ 溶存酸素 7.9mg/ℓ以上 試験魚数: 各濃度区10尾 試験水は48時間まで交換しなかった	0.13	0.13
モツゴ稚魚 孵化後1月 体重 平均0.02g 全長 1.3cm 体長 1.1cm	人工軟水 (硬度25mg/ℓ) 水温25℃ 溶存酸素 7.0mg/ℓ以上 試験魚数: 各濃度区10尾 試験水は24時間目に全量を交換した	0.29	0.26

なった。なお低下の割合はコイで著しかった。96h-LC50はコイで73mg-N/ℓ, ヒメダカで65mg-N/ℓである。田端は試験水のpH 8.0の場合の24h-LC50をコイ(0.41g) 53mg-N/ℓ, ヒメダカ(0.35g) 76mg-N/ℓと報告しているが、これらの値とはほぼ同じであった。

キャプタンについての結果は表3に示した。仔魚と稚魚の段階をくらべると、急性毒性濃度は約2倍のちがいがあった。しかしニジマス仔魚とくらべるとモツゴ仔魚の感受性は約1/10と低かった。

4 藻類を用いた毒性試験

淡水産の微細藻類は必ずしもなじみの深い生物ではない。しかし藻類は一般に水生生態系で生産者として重要な位置を占めており、例えば付着藻類の生育のよしあしがアユの育ちに大きく係わっていることはよく知られている。このため藻類は水生生態系の保全を目的とした毒性試験の対象生物として候補の一つとなる。本年度はこの淡水産藻類を用いて前年度に引き続きゴルフ場農業について試験することとした。

(1) 試験方法

緑藻のムレミカヅキモ (*Selenastrum capricornutum*) を用いて21℃で3日間試験した。毒性は細胞数の増加への阻害から評価した。詳細は前回の報告に述べた。

(2) 結果と考察

今回試験した農業では、藻類へ毒性を示す濃度は数mg/ℓ以上であった(表4)。なおナプロバミドとメコブ

表4 藻類を用いた毒性試験結果

農薬	用途	生長量を3日間で50%低下させる濃度, mg/ℓ
キャプタン	原体 殺菌剤	2.3
フルトラニル	原体 殺菌剤	>10
ベンスリド	原体 除草剤	2.3
ベンスリド	製剤 除草剤	2.8
メコブロップ	製剤 除草剤	>10
ナプロバミド	製剤 除草剤	3.0

ロップでは低濃度で生長を促進する効果があったが、これが農業自体によるものか添加されている界面活性剤等によるのかは今後つめたい。

試験に用いた緑藻のムレミカヅキモ (*Selenastrum capricornutum*) 及び甲殻類のオオミジンコ (*Daphnia magna*) は国立環境研究所から分与していただいたものであり、またコイは都立水産試験場から分与していただいたものである。研究への御協力を感謝したい。

参考文献

- 1) 北野大: 化学品の生態影響評価手法の現状— OECDでの検討状況を中心として— (第3回), *Ecochemistry News Letter*, 4, p.5-10 (1992).
- 2) 田端健二: ヒメダカを供試魚とする TLm 標準試験方法の提案, 用水と廃水, 14, p.1297-1303 (1972).
- 3) 菊地幹夫ら: 水生生物への生態毒性試験, 東京都環境科学研究所年報1991-2, p.241-245.