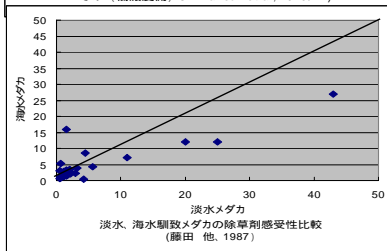
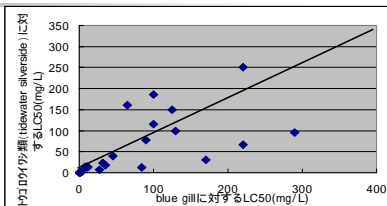


# 海産魚類及び甲殻類に対する 急性毒性試験法について

鹿児島大学水産学部 小山次朗

## なぜ海産生物で生態毒性試験 を実施するのか？

- 多くの生態毒性試験では淡水生物を用いており、そのデータを元に化学物質の生態リスク評価が行われている。
- 化学物質によっては海産生物がより高い感受性を示すことがある  
例えばDBの96h-LC50はヒメダカで106mg/L、マダイで0.4mg/L
- 化学物質に対する感受性が異なる可能性があり、淡水生物と海産生物それぞれで生態毒性試験を実施する必要がある。
- 油処理剤、バラスト水、船底防汚剤などのように、主に海域で用いられる化学物質の生態影響評価の必要性があり、その需要が増えつつある。





## 試験生物の選択条件

### 生態毒性試験のための試験生物選択条件

(Standard Methods, 20<sup>th</sup> Edition, 1998)

試験物質に対する感受性が高い。

一定のサイズの試験生物を、年間を通して十分な数で入手できる。

経済的あるいは生態学的に重要である。

試験施設での飼育が容易で、その栄養要求が明らかとなっている。

を除けば、**養殖されている魚介類**は選択条件を十分に満足している。



## 試験生物の選択

年間を通して十分な数の供給の受けられる種は何か？

植物プランクトン：*Skeletonema costatum*など

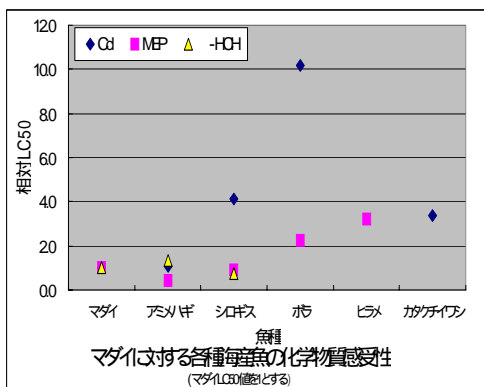
動物プランクトン：**アルテミア**などが考えられるが、感受性に問題のあることが知られている。動物プランクトンという範囲ではなく、甲殻類として考えれば、**クルマエビ**などが考えられる。

魚類：海産魚（マダイ、ヒラメ、クロダイ、カクチイワシなど）の化学物質感受性を調べた結果、**マダイ**が高い感受性を示した。

甲殻類として**クルマエビ**、魚類として**マダイ**を選択

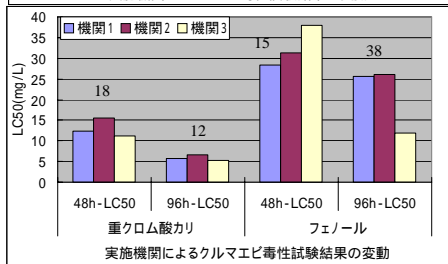
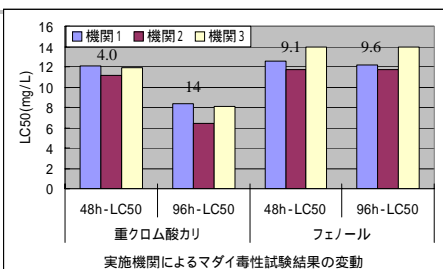
## 海産魚の化学物質に対する感受性比較

- 6魚種(海産魚)に対するCd、MEP、-HCHの96h-LC50を求め、魚種間比較を行った。
- アミハギ、シロギスで少し高い感受性が認められたが、マダイも同程度の高い感受性を示した。



## マダイ、クルマエビ毒性試験リングテスト

- マダイに対するLC50の実施機関による変動は小さく、変動係数は14%以下
- クルマエビに対するLC50の変動は、マダイに比較して少し大きいですが、変動係数が38%以下であり、比較的安定した結果の得られることが考えられる。



## クルマエビ

*Penaeus japonica*



- 完全養殖されている。
- 予備飼育期間中は、水槽の底に砂を敷く。ただし、飼育が長期間に達する場合、餌やフンによる底質の汚染が問題となる。
- 予備飼育、試験期間中をとおして共食いする。
- 脱皮した個体の化学物質に対する感受性が変化する。
- 試験期間中は、共食いの防止、脱皮個体識別のため、個体毎に分離する必要がある。

## クルマエビの発育段階

ふ化からの日数	0日	1~2日	5~9日	8~13												
体長	0.3mm	0.9mm	2.8mm	6.0mm												
発育段階	<table border="1"> <thead> <tr> <th>ノープリウス</th> <th>ゾエア</th> <th>ミス</th> <th>ポストラーバ</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>△</td> <td>△</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>ふ化</td> <td>卵黄吸収</td> <td>摂餌開始</td> <td>3回脱皮</td> </tr> </tbody> </table>				ノープリウス	ゾエア	ミス	ポストラーバ	△	△			ふ化	卵黄吸収	摂餌開始	3回脱皮
ノープリウス	ゾエア	ミス	ポストラーバ													
△	△															
ふ化	卵黄吸収	摂餌開始	3回脱皮													
餌料	珪藻	_____														
	アルテミア	_____														
	配合飼料	_____														

脱皮個体と未脱皮個体で化学物質に対する感受性が変わることが知られている

## クルマエビの運搬

ゾエア及びミス期クルマエビを、京都府宮津市から宅配便により福岡県久留米市、静岡県大井川町及び東京都多摩市まで1日かけて運搬

死亡率は25～45%

到着後の各試験機関での死亡率はほぼ10%未満

全長30mmのクルマエビ幼体を、京都府宮津市から宅配便により鹿児島市まで1日かけて運搬

死亡率10%未満

到着後の死亡率は記録しなかったが、飼育は順調

ミス以前の幼生の運搬に問題があるが、その後の順化飼育により回復させることによって使用可能

## クルマエビの絶食耐性

- 48h LC50 以上を求める必要がある 少なくとも試験開始から72時間までの対照区の累積死亡率が10%未満である必要がある。 体長4mm以上のミス期以降の個体が利用可能。ただし、活魚運搬を考慮に入れるとポストラバ期以降の個体

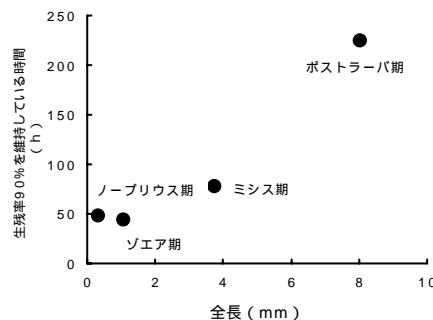
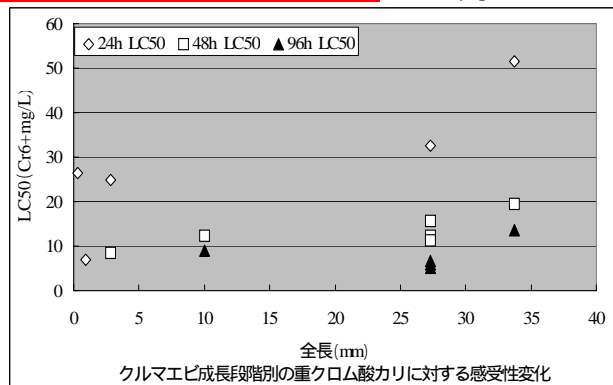


図 供試エビの全長と生残率90%を維持している時間との関係

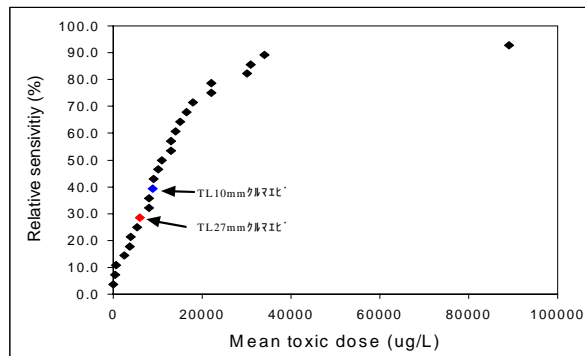
## 成長に伴うクルマエビの化学物質に対する感受性の変化

- ミス(全長3mm程度)から10mmのポストラーバ以上の成長段階まで大きな感受性の変化が認められない 現時点では扱いやすい ポストラーバ期以降を試験生物として用いる



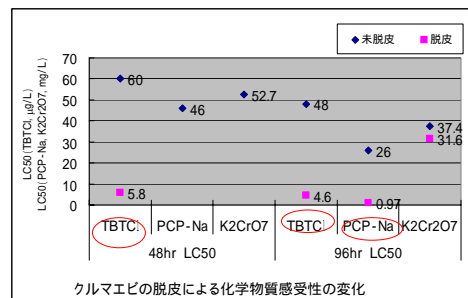
## クルマエビの化学物質に対する感受性

- ゾエア期の24h - LC50 は、20mg/L
- Cr<sup>6+</sup>に対する感受性は、ポストラーバ期以降でも比較的高い。試験生物として適している。



## 脱皮、未脱皮個体の感受性差

- K2Cr2O7の場合、ほとんど差が無い。
- 未脱皮個体のLC50は、脱皮個体のその10倍(TBTC!)あるいは27倍(PCP-Na)であり、両者の化学物質感受性に大きな差がある  
 個別試験の実施

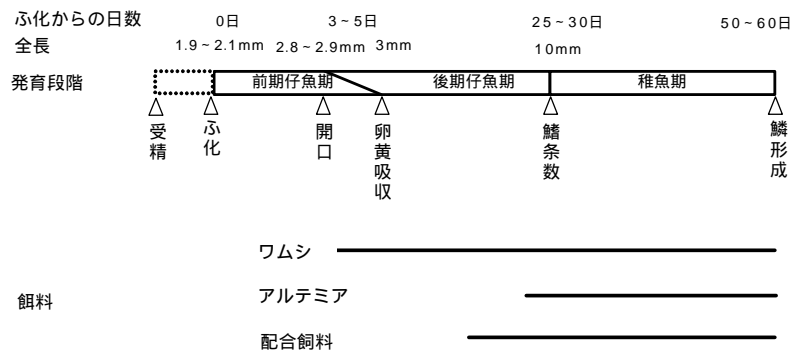


## マダイ *Pagrus major*



- 完全養殖されている。
- 網などにより取り扱いに弱いため、短時間で水槽換えなどを行う必要がある。
- 弱った個体は他の個体から攻撃され、最終的には共食いされてしまうため、十分な餌を投与する必要がある。水質を良い状態に保つため、十分な換水が必要(できれば流水式飼育)

## マダイの発育段階



開口前(体表呼吸)と開口後(鰓呼吸)で重金属に対する感受性が著しく変化する。

## マダイの運搬

マダイ卵を、和歌山県西牟婁郡串本町、またはすさみ町から宅配便により福岡県久留米市、静岡県大井川町及び東京都多摩市まで1日かけて運搬(福岡県久留米市への運搬では航空便でも行い、運搬時間は約9時間であった)  
到着後の孵化率は66%~100%  
(正常孵化率23%~100%) **正常孵化した群を用いて試験**

全長20あるいは30mmのマダイ稚魚を京都府宮津市から宅配便により鹿児島市まで1日かけて運搬  
死亡率4%未満  
到着後の飼育状況は順調であった **到着後の馴致飼育で飼育状況良好な群を用いて試験**



## マダイの絶食耐性

- 48h LC50 以上を求める必要がある。少なくとも試験開始から72時間までの対照区の累積死亡率が10%未満である必要がある。**後期仔魚期**が利用可能
- 後期仔魚期を試験魚として用いるには、卵の供給を受けて後期仔魚期まで飼育する必要があるが、その間の生残率を高く保つことは現時点では困難である。**稚魚期以降の個体**を用いる。

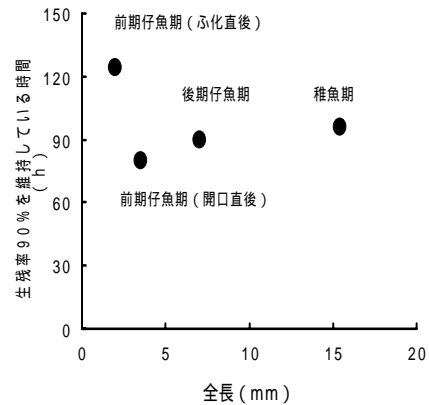
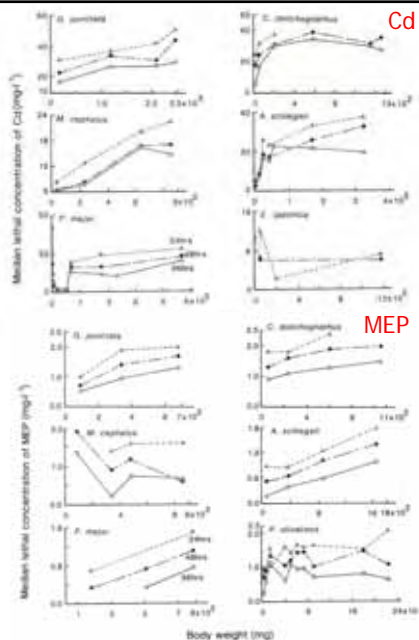


図 供試魚の全長と生残率90%を維持している時間との関係

## 海産魚の成長段階別化学物質感受性の実例

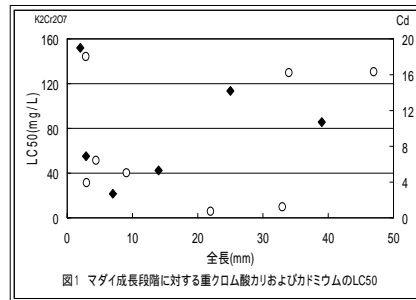
- どの海産魚も、成長するにしたがって感受性が低くなる。LC50が大きくなる。
- 孵化後3日程度までのマダイ(全長3mm)は**開口**していないため、Cdを含む海水が鰓を還流せず、**吸収が緩慢**なため、**感受性が著しく低い**。同様のことがCr<sup>6+</sup>でも観察されている。



海産魚に対するCd、MEPの成長段階別毒性 (水環境学会誌 小山 他, 1992)

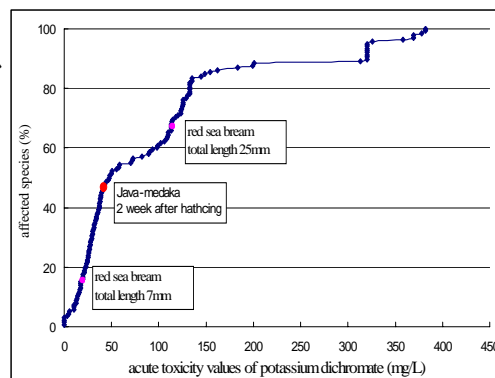
## マダイ成長段階による感受性差

- Cdに対する感受性が、開口前(孵化後3日まで)と開口後で大きく異なる。
- Cd吸収経路の差に起因する蓄積量の差によるものと考えられる。
- Cr<sup>6+</sup>に対する感受性も同様の傾向が認められた。
- 開口前の成長段階のみでの試験は、被験物質の毒性を過小評価してしまう。開口後のステージ個体を試験に使う必要あり
- 扱いやすさなどを考慮すれば、稚魚期以降の個体が試験魚として適しているが、その感受性の高さを考えれば、可能な限り小型の個体を用いる。



## 化学物質に対するマダイの感受性

- 毒性試験の標準物質の一つである重クロム酸カリに対するマダイの感受性を他の海産魚と比較
- 全長25mmの稚魚の感受性は、中程度であったが、全長7mmの仔魚の感受性は高かった。



## 試験結果に影響を及ぼす因子

### 1. 水温

#### ■ マダイ

産卵期水温が15 ~ 23

飼育適水温が15 ~ 30

水温25 以上で多くの病気にかかる。

以上を総合して、試験適水温を**20 ±1** とした。

#### ■ クルマエビ

飼育的水温が15 ~ 25 あるいは10 ~ 31

クルマエビ類は飼育水温が25 を越えると、斃死率が上昇し、成長量が減少する。

以上を総合して、試験適水温を**20 ±1** とした。

## 試験結果に影響を及ぼす因子

### 2. 塩分

- Cdの毒性試験では塩分24pptでは明らかにLC50の低下が認められたが、塩分29pptと34pptの間ではCd及びMEPの毒性に明確な差は認められなかった。
- 通常の沿岸海水の塩分である32pptを試験適塩分とした。

## 試験結果に影響を及ぼす因子

### 3. 酸素濃度

- 淡水魚(コイ)の酸素消費量に比較してマダイの酸素消費量が約2倍であることから、従来いわれている収容密度 1 g/Lよりも少なめの 0.3 g/Lを適正収容密度とした。
- 毒性に影響を与える酸素濃度が明らかにされていないため、従来の基準である飽和度60%以上を適正酸素飽和度とした。  
なお、収容密度 0.3 g/Lであれば酸素飽和度60%以上は十分維持できるものと考えられる。
- クルマエビについての酸素濃度に関する情報が無いため、マダイと同じとした。

### 今後の問題点

- クルマエビのミシス期以前あるいはマダイ仔魚期の試験実施が難しい 飼育施設の十分備わっている施設で実施可能
- Early life stage toxicity testを実施することは現時点ではできない 他の海産魚種の結果から、マダイやクルマエビの長期毒性値を推定

We conserve the water environment and fish resources.

Thank you for your attention



水産庁及びKANSOテクノスのデータを使わせていただいたことに感謝します。