

海産魚プテラポゴンを用いた毒性試験法の提案

はじめに

海生研では、海洋環境への影響が懸念されている化学物質が、どれくらいの濃度で海産生物に影響を与えるかを把握するための実用的な毒性試験法を提案することを目指して調査を実施しました。海生研ニュース113号には「化学物質の海の生物への影響を調べる方法」というタイトルでシロギス稚魚を用いた96時間急性毒性試験に関する研究紹介を記載しました。本稿では、その後に実施した*Pterapogon kauderni*(以下、プテラポゴン、表紙写真参照)という海産魚を用いた毒性試験法についてご紹介します。

海産魚を用いた試験の難しさ

化学物質の有害性を評価する毒性試験法として、魚類では淡水魚を用いた急性毒性試験、初期生活段階毒性試験に関するテストガイドラインが経済協力開発機構(以下、OECD)から公表されています。これらのガイドラインでは、メダカ、ゼブラフィッシュ、ファットヘッドミノーなどの種が用いられています。海産魚については、水産庁発行の海産生物毒性試験指針(水産庁、2010)などがあり、急性毒性試験についてはシロギス、マダイ、海水馴致したシーブスヘッドミノーやマミチヨグなどを用いて試験が行われています。しかし、初期生活段階毒性試験などの慢性毒性を評価する試験の実施例は淡水魚と比較して著しく少ないのが現状です。その理由として、多くの海産魚の仔魚は、淡水魚と比較してハンドリングに弱く生残率が低くなりやすいことなどが挙げられます。

プテラポゴンを用いた理由

そこで、私たちは、(1)仔魚がハンドリングに比較的強い、(2)親が多くの海産魚と比較して高密度で飼育可能である、(3)共食いをしない、(4)半循環式水槽での飼育下でも産卵する、(5)卵径が大きく作業および観察が容易であるなどの特徴を持つズキ目テンジクダイ科の海産魚プテラポゴンを選定し、急性毒性試験法の提案と実用的な初期生活段階試験法の検討を行いました。

プテラポゴンについて

プテラポゴンは、インドネシア・スラウェシ島の中部東

方沖のバンガイ諸島の周辺に生息する海産魚です。最大体長は約55mm、全長は約80mmです。雌は直径約2.5mm~3.0mmの非常に大きな卵をおよそ50~100個産出し、産出された卵はすぐさま雄の口腔で保育されます。孵化直後の初期発育段階に浮遊期はありません。雄は卵を2~3週間口腔内で保育し、孵化した稚魚(体長約6mm)は雄の口腔内に6~10日間留まります(Vagelli, 1999)。稚魚は口腔を離れた後に、再び口腔内に戻ることは通常なく、遊泳生活を始めます。

急性毒性試験法の提案

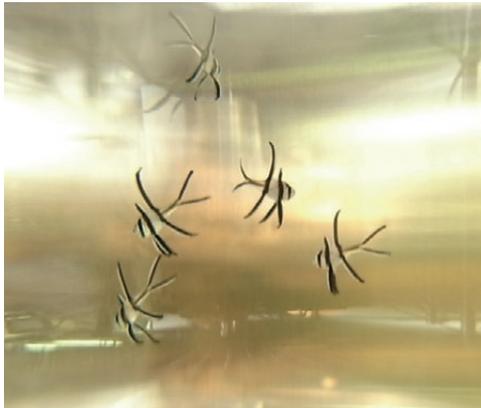
提案した試験法は、OECDのテストガイドライン[TG203]や水産庁の海産生物毒性試験指針に記載されたマダイおよびシロギスを用いた急性毒性試験法に準拠しています。



第1図 急性毒性試験風景

最初に試験海水を調製します。試験物質を含まない海水と試験物質濃度が異なる5段階の試験物質を含んだ海水を作ります。その海水を第1図に示したガラス容器(容量3L)に入れます。次に一つの容器にプテラポゴンの稚魚を5尾ずつ入れます(第2図)。113号で紹介したシロギスを用いた試験では、一つの容器(容量1.5L)にシロギスを1尾ずつ入れました。1容器1尾とした理由は、シロギスが共食いの習性を持っているため、1尾ずつ隔離する必要があったからです。プテラポゴンを用いた試験では、メダカなどの淡水魚を用いた毒性試験と同様に、一つの容器に複数の魚を入れて試験を行うことが出来ます。魚を容器に入れた後、96時間観察してプテラポゴン10尾中5尾

が生き残る試験物質濃度(96時間半数致死濃度)を計算します。



第2図 試験中のプテラポゴン稚魚

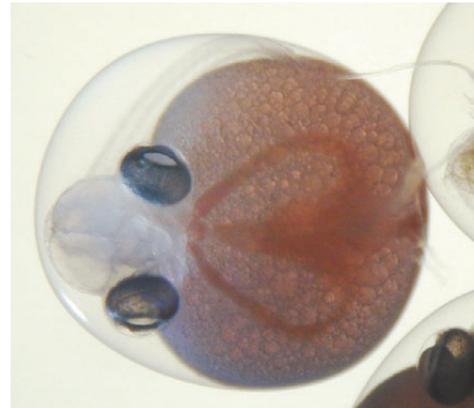
提案した試験法を用いて六価クロム, トリブチルスズ化合物, リンデンという3物質の急性毒性試験を行い, 96時間半数致死濃度を算出しました。これらの試験結果とマダイやシロギスなど他の海産魚で得られた値を比較したところ, プテラポゴンは他の魚種と比較して化学物質に対する感受性が同等もしくは高い種であると考えられました。水環境中の化学物質影響を評価する際の試験生物の選定条件として, 化学物質に対する感受性が高いことは, 化学物質の有害性をよりの確に見積もる上で極めて重要です。また, プテラポゴンは, 前述のように, 稚魚の生残率が高いなどの特徴を有することから, 毒性試験に用いる海産魚として多くの適性を有すると考えられます。

実用的な初期生活段階毒性試験法の検討

急性毒性試験に続いて, トリブチルスズ化合物を用いた初期生活段階毒性試験を実施し, プテラポゴンを用いた試験法の有用性を検討しました。魚類急性毒性試験では, 生死を指標として毒性値を把握しますが, 初期生活段階毒性試験では, 正常に孵化するかどうかや成長に影響がないかなどを指標に毒性値を把握します。初期生活段階毒性試験は, 急性毒性試験と比較してより低濃度での影響を把握できます。

試験海水の調製は急性毒性試験と同様に行いました。次に一つの容器(容量3L)に受精7~8日後(発眼後)のプテラポゴンの受精卵を15個ずつ入れました(第3図)。試験海水中のトリブチルスズ化合物濃度は急性毒性試験の結果から得られた96時間半数致死濃度以下に設定しました。試験海水は1日1回全量を交換しま

した。試験期間は44日間としました。試験開始18日後に摂餌可能な成長段階に達したため, その後はワムシを1日2回与えました。試験開始44日目に生残個体を全て取り上げ, 体長や体重を測定しました。測定結果から成長に影響が見られなかった最も高い試験濃度(最大無影響濃度)を把握しました。調査結果から, トリブチルスズ化合物の最大無影響濃度は96時間半数致死濃度の15分の1程度であることがわかりました。



第3図 発眼後のプテラポゴンの受精卵

おわりに

本調査により, これまでの海産魚種を用いた試験法に比べ簡便な急性毒性試験法を提案することができました。また, 受精7~8日後のプテラポゴンの胚を用いると, 半止水式の44日間初期生活段階毒性試験が実施可能であることがわかりました。試験期間は, 暴露開始から自発的に摂餌を始める前までの16日間と摂餌開始後28日間を合わせた44日間としました。摂餌開始後の試験期間は, OECDのテストガイドライン(TG215, 稚魚成長試験)などを参考に設定しました。

しかし, 今回の試験では, 受精7~8日後の発眼後の胚から試験を開始したため, 従来の淡水魚を用いた試験で規定されている発育段階, すなわち発眼前の発生段階を含めた初期生活段階に及ぼす化学物質の影響を把握することができませんでした。今後, このような課題を克服してより利用価値のある試験法を提案する予定です。

引用文献

- ・ Vagelli, A. (1999). The reproductive biology and early ontogeny of the mouthbrooding Banggai cardinalfish, *Pterapogon kauderni* (Perciformes, Apogonidae). *Environ. Biol. Fish.*, 56, 79-92.

(実証試験場 応用生態グループ 岸田 智穂)