

シオダマリミジンコを用いた化学物質の有害性評価手法

はじめに

水域における化学物質の有害性について、経済協力開発機構OECDや国際標準化機構ISOなどの国際機関で評価手法が開発されています。しかしこれらは主として淡水生物を対象としたものであり、我が国の海産生物に直接適用することは困難でした。このため水産庁では、昭和62年度より海産生物を用いた化学物質の有害性評価手法を確立することを目的とし、海の生態系におよぼす化学物質の有害性評価手法の開発をすすめてきました。海生研ではこれらの事業の一部を担当しています。ここでは有害性評価手法のうち、小型の甲殻類であるシオダマリミジンコを用いた手法開発の取り組みについて紹介します。

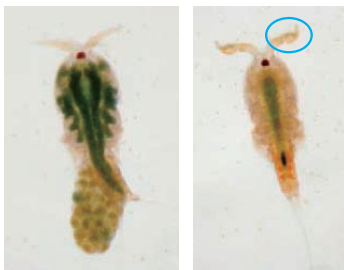


図1 シオダマリミジンコの成体(左:卵のうを持つメス, 右:オス). 交尾前になるとオスはカギ状の触覚先端(青丸)を使ってメスを保持する(図2右下:ペアリング参照).

シオダマリミジンコについて

シオダマリミジンコはカイアシ類と呼ばれるグループに属する全長約1mmの小型の甲殻類(図1)で、干潮時に露出した岩などに水がたまっている「潮だまり」に多く生息する種です。天然では生産者である植物プランクトンを餌としており、また自身は高次消費者である魚の餌となっていることから、シオダマリミジンコは沿岸生態系の物質循環にとって大変重要な役割を担っていると言えます。

シオダマリミジンコの飼育は大変容易であり、実験動物

としても扱いやすく¹⁾、多くの研究例が報告されています。

シオダマリミジンコの生活史を図2に示しました。メスが持っている卵のうから通常20~40個体のノープリウスがふ化します。ふ化したノープリウスは脱皮を繰り返しながら成長し、5回の脱皮を経てコペポデイドに変態します。コペポデイドも同じく脱皮によって成長し、5回脱皮すると成体になり、それ以降は脱皮しません。交尾後、メスは卵のうを産み、ノープリウスがふ化するまで卵のうを腹部に保持します。ノープリウスがふ化した数日後、メスは新たに卵のうを産み、またノープリウスがふ化するということが繰り返されます。なお、淡水産のミジンコは通常、オスが不在のままメス単独で産仔します(単為生殖)。

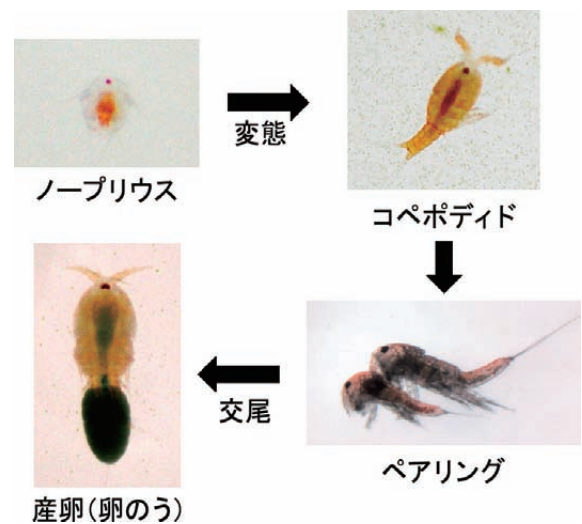


図2 シオダマリミジンコの生活史概略. 卵のうから第1期ノープリウス(約0.1mm)がふ化する. ノープリウスが変態してコペポデイドになる. ふ化から産卵まで10~13日間程度.

ニクロム酸カリウムによる繁殖阻害影響²⁾

有害性評価手法を開発する一環で、有害性データが比較的多く蓄積されているニクロム酸カリウムを使って、繁殖阻害試験を実施しました。海産の甲殻類を用いた有害性評価手法は、国際的には整備中のものが多

く、我が国においても標準的な方法がありません。このため、シオダマリミジンコを用いた他の研究例³⁾を参考にして試験操作を行い、淡水のミジンコを使った標準試験法⁴⁾をシオダマリミジンコに適用できるかどうかを検討しました。

試験に用いた二クロム酸カリウムは水に溶解すると六価クロムを生じ、これが生物にとって有害であることが分かっています。ここでは六価クロムの濃度が5段階になるよう試験水を準備しました。試験に使うノープリウスは1つの試験濃度区につき20個体としました(図3)。観察しやすいように1個体ずつ容器に収容しましたが、オスとメスで交尾させるためにコペポデイドを一度同じ容器に収容しました。この点が淡水ミジンコの標準試験法と大きく異なります。その後、交尾して産卵したメスを1個体ずつ容器に収容し、ふ化したノープリウスの数を記録しました。また試験期間を通じて生き残った個体数、成熟できた個体数、変態を終えた個体数などについても記録しました。

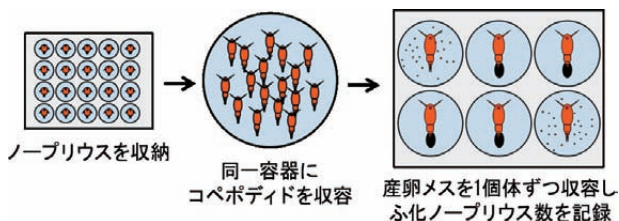


図3 各試験濃度区における暴露手順の概略。

各試験濃度区の結果を解析し、六価クロムを添加しない場合(対照条件)と比較したところ、六価クロムの濃度が0.8mg/L以下であれば、生残した個体数、成熟した個体数および変態するまでの日数について、対照条件と差がなかったため、この値が最大無影響濃度(NOEC)であるとしました。一方、ふ化ノープリウス数から求めたNOECは1.6mg/Lと推定されました。なお、水質汚濁防止法で定められた六価クロムの許容濃度は0.5mg/Lとなっています。

以上の検討結果から、淡水ミジンコの標準試験法をシオダマリミジンコに適用するには、試験期間中にメス

とオスを一緒にするなど一部の方法を変更することで実施できることが分かりました。

標準試験法の提案

海生研ではこのような検討を重ね、水産庁の有害性評価法開発に関わる取り組みの中でシオダマリミジンコを用いた標準試験法を提案してきました⁵⁾。以下にその概要を説明します。

試験は前述の繁殖阻害試験のように、対象とする化学物質に21日間暴露した時の生残、成長、繁殖に関わる項目を観察し、NOECなどを得る方法となっています。他の試験条件は表1に示す通りです。

表1 繁殖阻害試験法の試験条件

| 項目 | 条件 |
|---------|--|
| 温度 | 20~25℃の範囲とし2℃以上の変動がないこと。 |
| 溶存酸素飽和度 | 試験期間を通じて60%を下回らないこと。 |
| pH | 希釈に用いる海水pHは7.8~8.4の範囲とする。試験期間中に1.5以上のpH変動がないものとする。 |
| 塩分 | 親の代の飼育時と同等にする。 |
| 照明 | 200~1,200 lxの範囲で一定とし、16時間明期とする。 |
| 試験濃度 | 3.2以下の公比で等比級数的に5段階以上設定する。対照区(助剤対照区)を設定する。 |
| 換水 | 週に3回以上実施する。 |
| 餌 | <i>Tetraselmis tetrathele</i> を10 ⁵ cells/mL以上。 |

観察した生物応答のデータは、観察項目ごとに有意差検定を行い、NOECを算出します。詳細については水産庁の海産生物毒性試験指針⁵⁾をご参照ください。なお、標準試験法については今後も検討を重ね、より使いやすくなるよう提案していく予定です。

(事務局 研究企画グループ 吉川 貴志)

- 1) 高久ら(2009)海生研研報, 12, 9-24.
- 2) Kikkawa et al. (2009) 14th International Symposium on Toxicity Assessment. (口頭発表)
- 3) Marcial et al. (2003) Environ. Toxicol. Chem. 22, 3025-3030.
- 4) OECD (2008) Guidelines for the Testing of Chemicals, No.211.