

3 研究内容

3. 1 はじめに

我々の人間活動に伴って様々な化学物質が環境中に放出されているが、その多くは海に到達し、懸濁物などに吸着して最終的に海底質に堆積する。特に人口密集域の都市部近郊沿岸域底質には多種多様な物質が残留する傾向が強く、物質によっては高濃度で残留することもある。これまで底質中化学物質の濃度分布調査は数多く行われているが、これらが実環境で生物にどのような影響を及ぼしているか、明らかにした研究例は少ない。現在、我が国における底質中化学物質の生物リスク評価は、単一化学物質の水暴露試験データをもとに平衡分配法と呼ばれる手法により行われることが多い。しかし、本評価は実際の底質毒性をどの程度反映しているか、その精度を疑う声も多い。海外では幾つかのグループが様々な底質影響評価法を試みており、カナダなど一部の国で淡水ヨコエビによる影響評価を公定法としているが、その評価は淡水域におけるものがほとんどである。我々は魚胚を用いた底質試験を開発するために、これまで様々な検証を重ねてきた。本法は、飼育水を用いず、間隙水を僅かに含んだ底質上でヒメダカあるいは海産魚のジャワメダカの胚が孵化直前まで発生が進むことを応用したものである。本法により、東京湾や大阪湾から得られた底質の影響評価を行ったところ、胚発生途中で死亡したり、発生や孵化の遅延、奇形仔魚の孵化を誘発する地点が、実環境に点在していることを見出した。

本研究では、まだ底質影響リスクの実態がほとんど知られていない瀬戸内海を調査対象地域とし、1) 工場密集域、2) 人口密集域、3) 港湾地域、4) 調査船により採泥が可能な地点、など幾つかの観点から調査地点を選び、底質を採取して海域の底質影響分布を明らかにすることを目的とする。2020年度はコロナの流行の影響から予定していた採泥が実施できなかった。そのため、まだ過去に採泥は実施したものの、影響評価試験が未実施であった、2018年に採取した底質についてその影響を調べた。

3. 2 採泥地点とその方法

底泥は2018年に今治、西条、新居浜市に接した10地点で実施した(図1)。本採泥は愛媛大学沿岸環境科学研究センターの調査実習船・勇魚によりスミス・マッ

キンタイヤーにて実施した。採取した底質は直ちに凍結して、鹿児島大学水産学部
に送付した。

底質を融解後、1 mm 径のふるいを通し、石や貝殻、その他の異物を取り除いた。
ふるった底質を室温下で乾燥後、脱塩などを目的として、3%に塩分調整した人工海
水で静に洗った。洗浄後、遠心分離して余計な水分を取り除き、わずかな間隙水を
含んだ状態にした。この状態の底質をガラスシャーレに一定の高さで敷き詰め、そ
の上に 15 個の胚を、底質に胚の半分程度が埋まるように置いた。このようなシャ
ーレを 1 地点につき 3 つ用意した (n=3)。底質の上には水を敷かないまま、シャ
ーレを密閉し、27℃のインキュベータ内で胚の底質暴露を行った。10 日間底質上で発
生させ、毎日胚の死亡や異常などを観察した。その後、48 穴マイクロプレートの各
穴に人工海水を入れ、底質上の胚を 1 つずつプレートの 1 穴に入れた。また、コン
トロール群のための底質として OECD のテストガイドラインである底質添加によ
るユスリカ毒性試験 (TG218/219) と同じ組成の底質を人工海水で処理したものを
用意した。この人工底質上で 10 日間胚を発生させ、その後マイクロプレートに移
したものをコントロール群とした。個々の胚を孵化後数日まで飼育し、孵化日数等
を調べると共に、孵化仔魚の奇形誘発なども観察した。



図 1. サンプルング地点

3. 3 結果と考察

本研究では、当初、各地点から得られた底質上で 11 日間胚を飼育する予定であっ
た。しかし野外から得られた底質のうち、暴露 10 日目程度で地点 8~10 の底質上

で孵化くらいまで発生が進んでしまい、やむを得ずこの時点で全ての底質暴露を止めて、胚を人工海水中に移した。これまで、ジャワメダカ胚を用いて日本沿岸域の様々な地点の底質影響を調べてきたが、これほど発生が早くなる例はあまりなかった。最終的にコントロール群の平均孵化日数が 16.1 ± 0.7 日であったのに対し、地点 8 は 12.2 ± 1.2 日、地点 9 は 12.3 ± 0.8 日、地点 10 は 11.9 ± 0.4 日と 4 日ほど孵化が早くなった。他の地点底質ではコントロール群と有意な孵化日数の短縮や遅延は見られなかった。

地点 8~10 ではその死亡率が高く、約 40~50%の有意な死亡率が観察された。死亡は地点 1 と 2 でも約 50%の有意な死亡率が見られた。地点 3 と 4 も 40%の平均死亡率が見られたがシャーレ間の分散が大きく、統計的な有意差はなかった。

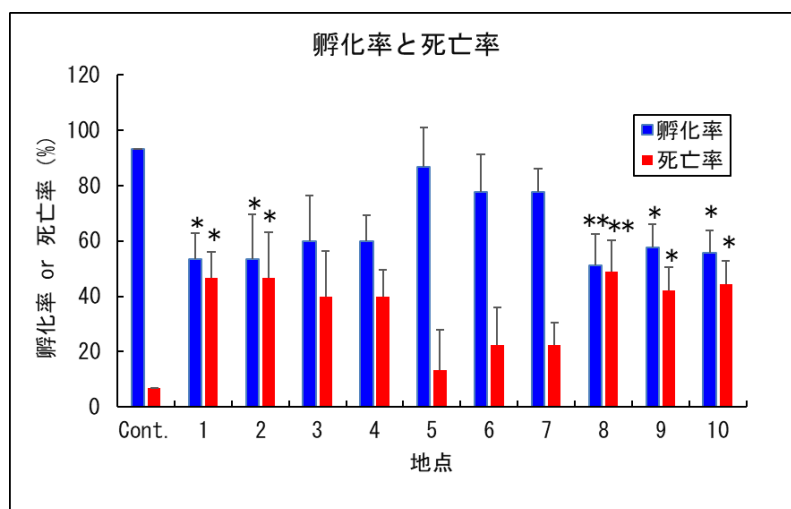


図 2. 孵化率と死亡率

*は $p < 0.05$ 、**は $p < 0.01$ で有意だった地点 (ダネット検定)

地点 1~4 および 8~10 では孵化した稚魚の奇形率が高く、特に 8~10 では孵化稚魚中ほぼ 90%から 100%に近い奇形誘発率であった (図 3)。この 3 地点では早期で孵化した個体も多く、そのためか孵化稚魚の血管が未発達であり、また、その他の臓器・器官も未熟な状態で孵化している様子がうかがえた (図 4)。その他、胚の発生中から様々な奇形を有した個体が観察された (図 4)。地点 1~2、8~10 はその影響がかなり大きいと、深刻な何らかの化学物質汚染が起こっている可能

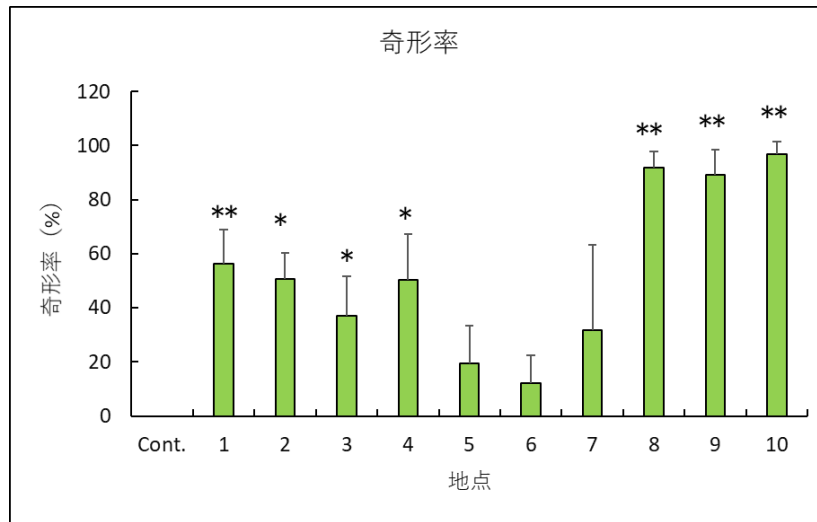


図 3. 奇形率

*は $p < 0.05$ 、**は $p < 0.01$ で有意だった地点 (ダネット検定)

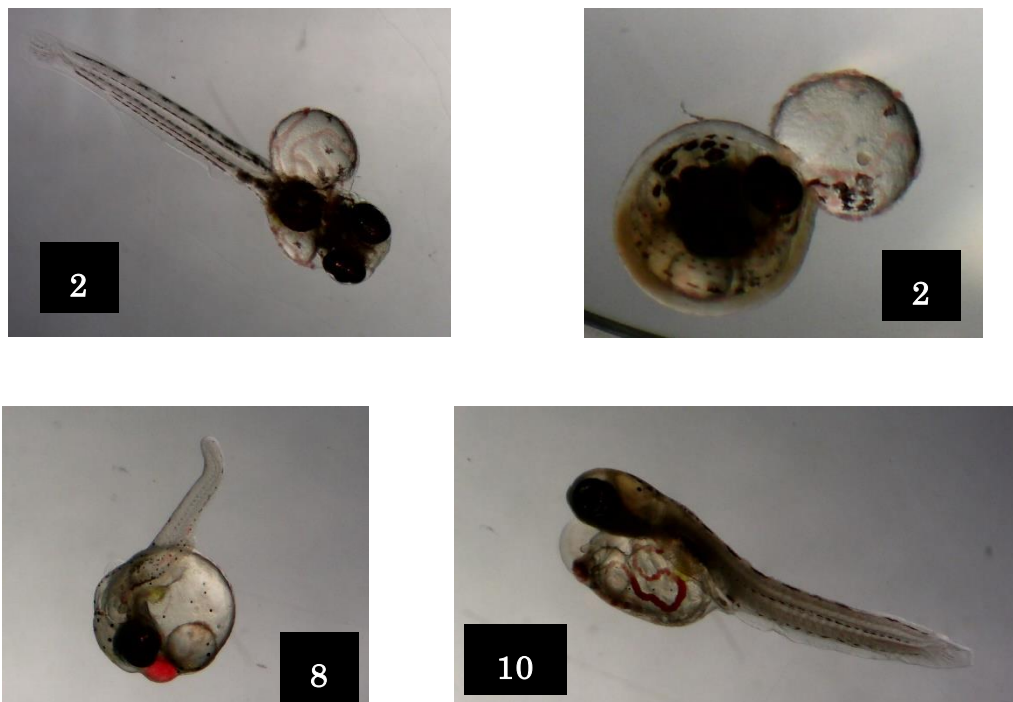


図 4. 観察された奇形の例 (番号は図 1 に示した採泥地点に対応)

性が高い。3、4 は有意ではなかったが死亡数も多く、また孵化稚魚も有意な発生率であったことから、これら 2 地点もある程度の生物影響を与えるような底質が

分布していたと考えるべきであろう。一方で地点 5~7 では明瞭な影響が見いだされず、その底質毒性はそれほど大きくないことが示唆された。

4 まとめ

2018年に、今治市、新居浜市、西条市に接する沿岸域で採取した底質についてジャワメダカ胚による影響評価を行った。採泥した10地点のうち、7地点は死亡および稚魚への奇形誘発といった重篤な影響を与えた。今回の調査地点のような影響誘発頻度やその影響レベルはこれまで我々が調査地点の中でも突出しているといえてよく、この海域では既に影響を受けている生物群がいるのではないかと危惧された。今後はその影響要因の発生源を探索すると共に、それぞれの影響を誘発する化学物質の特定を急ぐ必要がある。本調査の結果は、さらにいくつかの評価を実施し、できる限り早く論文発表する予定にしている。