

論文の内容の要旨

水圏生物学専攻

平成 12 年度博士課程 進学

氏名 大地まどか

指導教官名 宮崎信之

論文題目 ワレカラ類（甲殻綱：端脚目）における有機スズ化合物の生物学的影響に関する研究

船舶や漁網等の防汚塗料として使用されてきたトリブチルスズ（TBT）等の有機スズ化合物は、海洋生物に対する毒性の強さから、その使用が一部の先進国で規制されている。しかしながら、現在も依然として海洋環境中に残留しており、その沿岸生態系への影響が懸念される。これまで、TBT の汚染状況の評価は主に魚類や貝類を用いて行われてきたが、TBT の生物学的影響については未だ不明な点が多い。

沿岸生態系における有機スズ化合物の蓄積特性は、有機塩素系化合物や重金属とは異なり、栄養段階の上昇に伴う濃縮はみられない。その特異的な蓄積は、栄養段階の低次に位置するワレカラ類にみられる。甲殻綱端脚目に属するワレカラ類は、岩礁性魚類の重要な餌生物であり、生物量の多い低次生産者として沿岸生態系では重要な役割を果たしている。したがって、ワレカラ類の個体群変動は沿岸生態系の均衡に影響を及ぼすものと考えられる。ワレカラ類は短寿命で世代交代が約一ヶ月であるため、TBT の生物影響を短期間で数世代にわたり解明することが可能であり、指標生物として有効であると考えられる。

本研究では、ワレカラ類を用いて海洋環境レベルの TBT の生物学的影響を把握し、指標生物としての有効性を検討することを目的とした。

1、ワレカラ類とヨコエビ類に対する TBT の急性毒性

近縁で生態的地位も類似するワレカラ類とヨコエビ類を用いて、TBT に対する感受性やその分解代謝能力を調べるため、急性毒性実験を行った。

岩手県大槌湾の岩礁域で潜水およびドレッジにより、5 種のワレカラ類と 3 種のヨコエビ類を採集した。室温 20℃、無給餌下で、各生物を 48 時間、7 段階の濃度の TBT 溶液（0、0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu\text{g TBTCl l}^{-1}$ ）に暴露し、半数致死濃度（ LC_{50} ）を算出した。ワレカラ類の LC_{50} （1.2~6.6 $\mu\text{g l}^{-1}$ ）は、ヨコエビ類（17.8~23.1 $\mu\text{g l}^{-1}$ ）より低く、TBT に対する感受性が高いことが示唆された。従来知見と比較したところ、ワレカラ類は TBT に対し感受性が極めて高い生物であることが明らかになった。

分解代謝能力を検討するため、大槌湾で採集した海水および生物の有機スズ化合物の組成を調べた。分析は既法に準拠し、GC-FPD（炎光光度検出器付きガスクロマトグラフ）で定量を行った。ワレカラ類は海水と同様に TBT が約 70%を占めたが、ヨコエビ類は TBT の分解代謝物のジブチルスズ（DBT）とモノブチルスズ（MBT）の総量が 70%以上であった。したがって、ワレカラ類はヨコエビ類より TBT に対する分解代謝能力が低いことが示唆された。

以上の結果から、ワレカラ類は、ヨコエビ類より TBT の分解代謝能力が低いため感受性が高く、海洋環境中の TBT 汚染状況を調べるための指標として最適であることが明らかになった。

2、孵化後の TBT 暴露がワレカラ類に及ぼす生物学的影響

腹足類では、孵化後の TBT 暴露により雌が雄性化することが知られている。そこで、5 段階の濃度の TBT 溶液（0、10、100、1000、10000 ng TBTCl l^{-1} ）をホソワレカラ *Caprella danilevskii* の孵化後一世代にわたり暴露し、性比等に及ぼす TBT の生物学的影響を調べた。

大槌湾で採集したホソワレカラを、室温 20℃、光周期 12L:12D で飼育した。実験には TBT の濃度が検出限界（2.0 ng l^{-1} ）以下の濾過海水を用いた。実験溶液の交換は毎日行い、溶液中の TBT の濃度を一定に保った。雌が成熟期に達した後、雄と交配させ産卵を促した。

孵化した幼体は、各濃度の TBT 溶液に暴露し、成熟期に達した雌では育胞内の卵形成や卵発生等の生殖状況を観察した。幼体の生残率は、対照区（0 ng l^{-1} 区）では 100%であったが、TBT 暴露後 50 日目では 10~1000 ng l^{-1} 区で 8.3~25.0%まで減少した。なお、10000 ng l^{-1} 区では暴露後 4 日以内に全個体が死亡した。雌の比率は、TBT の濃度に関わらず 44.4~50.0%の範囲であり、対照区（45.0%）と有意な差は認められなかった。10 ng l^{-1} 区と 100 ng l^{-1} 区で卵形成阻害や抱卵

数の減少がみられた。雌の成熟到達日数は、対照区（33日）と比較して10 ng l⁻¹区と100 ng l⁻¹区で39日となり、遅延がみられた。各齢の体長は100 ng l⁻¹区と1000 ng l⁻¹区で、各齢への到達日数は1000 ng l⁻¹区で、雌雄とも対照区と比較して遅延がみられた。10 ng l⁻¹区以上で鰓の欠損や壊死、脚の欠損や麻痺、脱皮障害等の外部形態の異常が認められた。このような形態異常は対照区ではみられなかった。

以上の結果から、孵化後のTBT暴露は、ホソワレカラの性比に影響を及ぼさないが、生残、生殖、成熟、成長および形態形成等に影響を及ぼすことが明らかになった。

3、卵発生期のTBT暴露がワレカラ類に及ぼす生物学的影響

ホソワレカラの孵化後のTBT暴露では、腹足類とは異なり、性比に変化がみられないことが明らかになった。したがって、本種ではTBTの作用時期が異なることが考えられた。そこで、ホソワレカラの卵発生期に5段階の濃度のTBT溶液（0、10、100、1000、10000 ng TBTCI l⁻¹）を暴露し、一世代以上にわたる飼育により、性比等に及ぼすTBTの生物学的影響を調べた。

産卵した雌は、卵発生期間に相当する5日間、各濃度のTBT溶液に暴露した。孵化した幼体は濾過海水で飼育し、観察を行った。成熟期に達した雌は、雄と交配させ産卵を促し、育胞内の卵形成や卵発生等の生殖状況を観察した。

TBTに暴露した雌の親個体については、成熟期1齢目に相当する暴露期間中に100 ng l⁻¹区以上で死亡がみられた。成熟期2齢目の産卵数は、対照区（0 ng l⁻¹区）と比較して10~1000 ng l⁻¹区で減少した。成熟期1齢目と、TBT暴露後の成熟期2齢目における産卵数を比較したところ、100 ng l⁻¹区では3.5個、1000 ng l⁻¹区では2.9個であった産卵数が、次齢では各々1.3個、1.0個と減少がみられた。孵化した幼体の雌の比率は、対照区では36.0%であったが、TBT濃度の上昇に伴い増加し、100 ng l⁻¹区では85.7%、1000 ng l⁻¹区では81.8%となった。卵の生残率は、対照区では100%であったが、TBT暴露5日間で10~10000 ng l⁻¹区で0~69.2%と減少した。孵化後の幼体を、濾過海水に移行した後も、全ての実験区で生残率の減少がみられた。生残率は、成熟するまでに（39~45日）10~1000 ng l⁻¹区で15.6~38.5%に減少した。成熟期1齢目では、100 ng l⁻¹区と1000 ng l⁻¹区で卵形成阻害と抱卵数の減少がみられた。対照区と10 ng l⁻¹区ではこれらの生殖異常が認められなかったが、異常個体の割合はTBT濃度の上昇に伴い増加し、100 ng l⁻¹区で66.7%、1000 ng l⁻¹区で100%となった。成熟到達齢は、対照区（8齢）と比較して10~1000 ng l⁻¹区（9齢）で遅延がみられた。幼体の各齢における体長および各齢への到達日数については、

雌雄とも対照区と比較して各濃度区で有意差は認められなかった。

以上の結果から、卵発生期の TBT 暴露は、ホソワレカラの成長や形態形成に影響を及ぼさないが、生残、生殖および成熟に影響を及ぼすことが明らかになった。とりわけ、卵発生期に性比を攪乱することが示唆された。

4、TBT によるワレカラ類の性の攪乱時期の推定

ホソワレカラでは TBT が卵発生期に性比を攪乱することが明らかになった。そこで、卵発生期間をさらに細分化し、TBT による性比の攪乱の時期を推定した。

卵発生期に相当する 5 日間を 12 時間毎に分割した。産卵した雌は、各時間帯に TBT 溶液（100 ng l⁻¹）に暴露した後、濾過海水で飼育した。抱卵した雌の育胞内の卵数や孵化した幼体の性別を調べた。

性比は、対照区では雌が 38.7%であったが、産卵後 12~60 時間に暴露した個体で雌の比率の増加がみられた。雌の比率は 36~48 時間で最高（71.4%）になった。産卵後 12~84 時間に TBT に暴露された個体では抱卵数の減少がみられた。卵が脱落する頻度は、暴露時期が遅くなるに従って 26.7%から 4.6%に減少した。以上の結果から、TBT がホソワレカラの性比および卵形成や卵発生に影響を及ぼす時期は、卵発生期間の比較的初期であることが明らかになった。

ワレカラ類は、分解代謝能力が低いいため TBT に対する感受性が高く、海洋環境レベルの TBT がワレカラ類の生残や生殖に及ぼすことが明らかになった。TBT は、腹足類では雄性化を誘導することが知られているが、ワレカラ類では逆に雌の比率を増加させることが明らかになった。これらの生物学的影響は、現在もワレカラ類の個体群動態に影響を及ぼしていることを示唆している。食物連鎖の低次に位置するワレカラ類の個体群変動は、これらを捕食する高次消費者の生残にも影響を及ぼし、沿岸生態系の均衡に影響を及ぼすものと考えられる。種の存続に影響すると考えられる TBT の性比攪乱の機構については、今後、分子生物学的および内分泌学的手法により解明する必要がある。

ワレカラ類は有機スズ化合物のモニタリングの指標生物として最適であることから、これらを用いることにより精度の高い海洋環境の調査が可能である。今後、世界各地に棲息するワレカラ類を用いて有機スズ化合物の汚染状況を調査することは、沿岸生態系の保全研究を進展させる上で極めて重要である。