

野生生物の生物学的知見研究課題について

元来生態系に存在する正常範囲の変動や各生物種での正常の状態等についての生物学的知見蓄積は、野生生物の観察において認められた事象を、異変と判断する際に必須である。

よって、化学物質対策の原点である野生生物における異変把握の際に必要な、野生生物に関する基盤的な知見の蓄積を目的とし、「野生生物の生物学的知見研究」を実施した。生態系への影響を実験によって検証することは困難である。また、わが国では継続的な野生生物の観察が十分行われていないとの指摘がある。このため、まず継続的に生物個体（群）の観察により変化を捉えることが重要である。そこで国内での継続的な野生生物の観察を推進することにより生物個体（群）の変化を捉え、生態系への影響を推定することとした。

1. 平成 17 年度野生生物の生物学的知見研究課題および成果

平成 17 年度については下記 4 課題について調査研究を実施した。調査内容については、研究会議及び検討会での協議内容で検討の上、決定した。

なお、課題 1、課題 2 については、平成 14 年度から平成 16 年度まで、「内分泌攪乱化学物質問題等に関する日韓共同研究業務」にて調査が行われていたものである。

○課題 1. 魚介類におけるダイオキシン類蓄積量の比較

代表研究者 門上希和夫（北九州市環境科学研究所）

日本国内のギンブナ中ダイオキシン類濃度を調査した。また、国内における比較のため、生息環境の底質および、より肉食性の強い淡水魚（オオクチバス）を検体とし、同様の調査を行った。

なお、本課題は水生生物を対象としているが、陸生生物の知見が不足していることから、本課題の枠で、既に別調査で知見の集積のあるアカネズミを対象とした調査を追加で設定し、実施した。

平成 17 年度の成果

課題 1 - 1. 日本におけるギンブナ中のダイオキシン類蓄積量調査

(1) ギンブナのダイオキシン類濃度

ギンブナのダイオキシン類の TEQ 濃度は、湿重量換算で 0.059 ~ 1.2 pg-TEQ/g wet(平均: 0.57 pg-TEQ/g wet)、脂肪換算では 7.0 ~ 81 pg-TEQ/g fat(平均: 47.5 pg-TEQ/g fat)であった。リモート地の TEQ 濃度は、他より有意に低かったが、大都市、中小都市および農業地域ではグループによる差は見られなかった。

(2) ギンブナ中の PCDD、PCDF、Co-PCB の同族体、異性体組成

同族体組成は八郎潟と琵琶湖では、T4CDD が大きな割合を占め、大都市域の多摩川、大和川及び天白川では P5CDF の割合が高かった。

T4CDD の中の異性体組成は、過去に除草剤として使用された CNP の不純物と

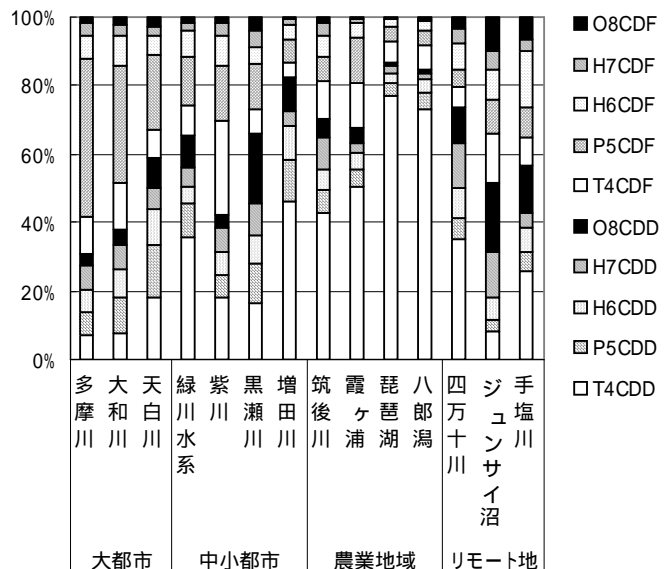


図 1 ギンブナ中のダイオキシン類同族体組成

して含まれていた 1368-TCDD が、大都市 3 地点と手塩川では 50%以下であったが、他の地点では 60%以上を占め、農業地帯では CNP の影響を強く受けていることが確認された(図 1)。一方、Co-PCB の異性体組成は大きな地域差が認められず、PCB 製品の組成に類似していた。

(3) ギンブナ中のダイオキシン類濃度の性差及び卵への移行

オスの体内濃度はメスに比べて高く、他の卵生動物と同様に母体から卵へのダイオキシン類の移行が原因で性差が生じていると考えられた。

表 1 繁殖期のギンブナのダイオキシン類濃度の性差

性	TEQ pg/g wet	TEQ pg/g fat	TEQ pg/個体
オス	1.21	83.7	257
メス	0.77	68.0	187
卵	1.95	40.1	50.7

(4) オオクチバスとの体内濃度の比較

平成 17 年度に調査を行った 2 地点で、オオクチバスを採捕してギンブナと体内濃度の比較を行った。両種の脂肪換算濃度に有意な差が認められたのは、霞ヶ浦の Co-PCB だけであった(表 2)。東京湾に生息する水生生物を対象にダイオキシン類の生物蓄積を調査した結果においては、PCDD/DF の総濃度は食物連鎖の上位に行くほど低下(但し、TEQ 濃度は若干上昇)し、逆に Co-PCB は栄養段階の上昇に伴い総濃度も TEQ 濃度も上がることが報告されている。本調査では霞ヶ浦の結果が同様な傾向を示したが、黒瀬川では Co-PCB の濃度上昇も見られなかった。この理由として、ギンブナの餌が考えられる。ギンブナは雑食性であるため、地域によっては動物性の餌を多く取りオオクチバスと同一の栄養段階に属する可能性もある。

表 2 オオクチバスとギンブナの脂肪換算濃度比(バス/フナ)

地点	PCDD	PCDF	Co-PCB
黒瀬川	1.39	1.50	0.75
霞ヶ浦	2.43	1.05	4.05

課題 1 - 2 . アカネズミのダイオキシン類蓄積特性と曝露経路

アカネズミの採取を行った 3 地点の土壌を採取、ダイオキシン類(PCDDs、PCDFs、Co-PCBs)の分析を行い、アカネズミの体躯の濃度各地点 10 個体(平成 16 年度および平成 14 年度環境省調査)と比較した。

3 地点の土壌のダイオキシン類濃度および異性体組成には差が認められた。特に農地周辺において 1,3,6,8-TeCDD、1,3,7,9- TeCDD、OCDD が他地点よりも顕著に高濃度であり、PCP などの農薬由来ではないかと推測された。また、都市周辺と森林における Co-PCBs の濃度および異性体組成が類似していたのに対し、農地周辺は Co-PCBs の濃度が低く、異性体組成から前者は PCB 製品に由来すると推測された。

アカネズミ体内の全体の濃度の地域差や PCDDs、PCDFs、ノンオルソ Co-PCBs、モノオルソ Co-PCBs の比率は、土壌の濃度の地域差や比率を反映しているとは考えられなかった。土壌などの環境媒体中の濃度から生物体内濃度を容易には推測できず、生物への影響を評価する際には異性体毎の蓄積特性にも配慮する必要があると考えられた。

○課題 2 . POPs 及び候補物質による日韓沿岸及び近海の野生生物汚染の実態解明

代表研究者：田辺信介（愛媛大学沿岸環境科学研究センター）

日韓の沿岸及び近海に生息する野生生物を対象に POPs 関連物質（候補物質を含む）による汚染の実態（現状と過去）を調査した。あわせて、既存の文献を整理し、他海域との比較を行い、日韓周辺海域の汚染の現状を評価した。

調査対象種としては、世界の沿岸域に広く分布、着生生物 採集が容易 広い塩分域に生息 多様な汚染物質を高濃縮 種間差小、海水汚染と相関、といった性質を持ち、指標生物として好適と思われるムラサキイガイを選定した。

平成 17 年度の成果

(1) ムラサキイガイの POPs 類濃度

ムラサキイガイ (*Mytilus edulis*) を指標生物として、PBDEs、HBCD、PCBs および有機塩素系農薬による韓国沿岸汚染の実態解明を試みた。PBDEs (5.9~420 ng/g lipid wt.) および HBCD (6~500 ng/g lipid wt.) は分析した全ての試料から検出された。

ムラサキイガイ中の PBDEs 濃度は、他の国で報告されている濃度よりも高く、試料採取地点によって大きく変動した。PBDEs の異性体組成は、BDE-47、BDE-99 および BDE-100 が全体の 90%以上を占めていた。また、BDE-209 などの高臭素化 PBDEs も検出され、ムラサキイガイ体内に取り込まれた粒子の影響が考えられた。一方 HBCD の異性体では、 α -HBCD が最も卓越していた。

韓国ではほとんどの有機塩素化合物の生産・使用を 1970 年代以降中止しているにも関わらず、依然としてこれら POPs による汚染が広く認められた。今回分析した物質のうち、DDTs および PCBs が最も高いレベルで検出され、続いて CHLs > HCHs > HCB の順であった。

(2) PCBs

本研究では最高 1000 ng/g lipid wt. の高レベル PCBs がムラサキイガイから検出された。

(3) DDTs

韓国では、DDT の農業目的での使用を 1971 年に禁止したが、検出された。DDE、DDD、DDT の相対割合は、それぞれ 58% \pm 18%、22% \pm 13%、21% \pm 12% で、DDT の分解産物である DDE が最も高い割合を示し、近年の DDT 汚染負荷がほとんどないことが示唆された。

(4) 他の有機塩素系殺虫剤

他の有機塩素系農薬 (CHLs, HCHs, HCB) は、PCBs や DDTs に比べ低濃度で検出された。

課題 3 . 雌雄同体性魚類の性の可塑性と社会構造に関する研究

代表研究者：須之部友基（千葉県立中央博物館）

化学物質の内分泌かく乱作用の生態影響としては、魚のメス化等、性に関わるエンドポイントが注目されている。そこで、魚類における性決定のメカニズムに関する基礎的知見を収集し、両方向の性転換をされると思われるハゼ科ベニハゼ属魚類とその近縁種において性転換がおきる生態学的条件を野外観察や飼育実験により調査した。

平成 17 年度の成果

(1) ハゼ科ベニハゼ属 11 種の生殖腺構造

ベニハゼ属ではイチモンジハゼ、ウロコベニハゼ、オオメハゼ、オニベニハゼ、チゴベニハゼ、ニンギョウベニハゼ、ベニハゼ、*T. straitaus* に卵巣と精巣が雌雄にかかわらず同時に見られた。雌では卵巣が発達し、精巣未発達であった。雄では精巣内に多数の精子を観察でき、卵巣は未熟であった。このような構造はこれまで報告のあるイチモンジハゼ、オキナワベニハゼ、ナガシメベニハゼ、*T. unisquamis* と同様で、双方向性転換する可能性があると考えられた。

アオギハゼ、オヨギベニハゼでは雌で卵巣と精巣が見られたが、雄では精巣のみが見られた。カスリモヨウベニハゼでは、雌は卵巣、雄は精巣しか見られなかった。アオギハゼ、オヨギベニハゼでは雌性先熟、カスリモヨウベニハゼでは雌雄異体の可能性が予想された。

(2) オニベニハゼ *Trimma* sp.1 の性転換

オキナワベニハゼでは水槽内で一番大きな雌が雄に性転換し、より大きな雄がいる場合には性転換した雄個体が雌へ戻る。オニベニハゼでも個体間の体サイズの違いによって、双方向性転換が起きるかどうかを飼育実験によって確認した。

雌から雄への性転換は7例、雄から雌への性転換は4例であった。雌から雄へと性転換した個体はすべて水槽内で最大の個体だった。雄から雌への性転換では大きい方の雄が雌になったのは1例で、残りの3例では小型の雄が雌へと性転換した。実験終了後に確認した生殖突起の形態による性の判別と、性転換後の性は一致した。

グループの中で最優位な個体が雄として機能する点でオニベニハゼとオキナワベニハゼの性決定様式は一致しており同様の社会構造を持つことが推察される。

(3) ナガシメベニハゼ *Trimma* sp.2 の性転換と体サイズ

ナガシメベニハゼの体サイズと性決定の関係を明らかにするために、同居実験で大小どちらの個体が性転換をするかを確認した。また、社会構造の検討のため、集団全体の野外採集を行い、生息密度を測定し、同属のオキナワベニハゼと比較した。

雄グループでは、12例中8例で大型個体が雌に性転換し、小型個体は雄のまま性を変えなかった。残り4例では大型個体は雄のままで、小型個体が雌に性転換した。雌グループでは、10例中2例で大型個体が雄に性転換し、8例では小型個体が雄に性転換した。

野外採集により、雄24個体、雌94個体、未成熟魚1個体(20.1mmTL)の計119個体が得られ、生息密度は23個体/m²であった。同属のオキナワベニハゼに対して非常に高密度であった。ナガシメベニハゼでは必ずしも最大個体が雄になるわけではなく、本種の社会構造はオキナワベニハゼのような一夫多妻のハレム社会ではないと思われる。

課題4．魚や水草の放流や移入による湖沼生態系かく乱の実態とそのメカニズムの解明

代表研究者：花里孝幸（信州大学山地水環境教育研究センター）

湖沼生態系保全のあり方や方法について検討する際の基礎的資料として、そのかく乱要因として湖沼外から意図的・非意図的に導入された魚や水草による作用に注目し、かく乱の実態とメカニズムの解明を試みた。

平成17年度の成果

(1) 諏訪湖沿岸域水草帯における隔離水界実験

2005年10月に諏訪市衣之渡川に隔離水界を設置し、予備的に調査を行った。水草帯が枯死する時期であったため、平成18年度より、本格的調査を行うこととした。

(2) 環境水の毒性評価と、その原因物質の解明

安国寺付近の諏訪湖流入河川である宮川において2005/03/22から2005/12/12まで7~16日ごとにポリバケツで表層水を採水、諏訪湖湖心において2005/03/22から2005/12/12まで14日ごとにカラムサンプラーで全層を採水し、農薬分析と生物試験を行った。生物試験には、室内においてクローンで継代培養しているオオミジンコ(*Daphnia magna*)を用いた。

比較的高い濃度で検出された殺虫剤は、宮川ではダイアジノンとフェノブカルブ、そして諏訪湖湖心ではダイアジノンとチオジカルブであった。特に、ダイアジノン殺虫剤が一番高い濃度で検出され、宮川では7月にピークを迎え、2ppb以上を示した。湖心では濃度上昇のピークがやや遅れ、8月となり、濃度も0.1ppbに達しなかった。

化学分析した水でオオミジンコの遊泳阻害試験を子行ったところ、宮川採集水で7月に阻害率が最も高く、その後、減少するが、10月にまた小さいピークが見られた。湖心採集水でも同様の挙動を示し、夏と秋に2つのピークが見られた(図2)。

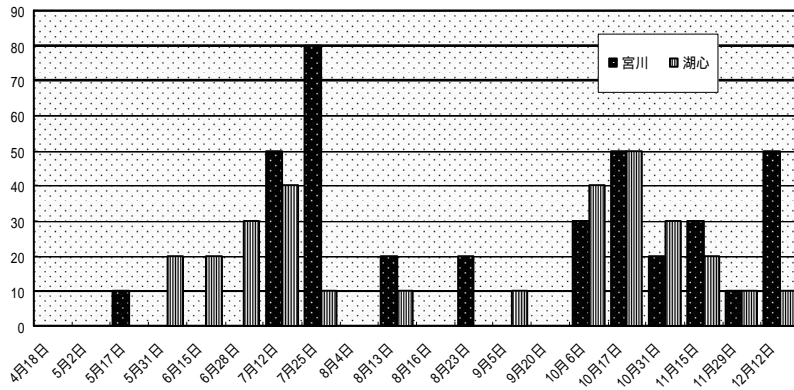


図2 宮川と湖心の水によるオオミジンコの遊泳阻害率

文献値からダイアジノンの半数遊泳阻害濃度(EC50)を調べたところ、宮川においては、7月の時点でEC50の値を超えており、この時期の遊泳阻害は殺虫剤の影響によることが示唆された。一方、10月の遊泳阻害率の上昇は、同時期に検出された農薬類で解釈することが難しく、その原因は不明であるが、毒素をつくる事が知られている藍藻類 *Aphanizomenon* の密度のピークがほぼ同時期であることが示されており、富栄養化された結果として増加した藍藻の産出する毒素が遊泳阻害の要因という仮説が考えられた。

(3) ケミカルコミュニケーションに及ぼす有害化学物質の影響の解明

捕食者カイロモンに誘導されたミジンコの形態変化に及ぼす殺虫剤(sublethal level)の影響を調べたところ、大型種であるオオミジンコにおいて、低濃度の殺虫剤暴露は形態変化の促進を促し、捕食者存在下でのミジンコの生存率の上昇と増殖速度の低下をもたらすことが示唆された。小型種であるニセゾウミジンコ(*Bosmina fatalis*)では、低濃度の殺虫剤暴露は形態変化の抑制を促し、捕食者存在下でのミジンコの生存率の低下をもたらすことが示唆された。

上記2種はいずれも捕食者に対し、においを感知し、形態変化するという防御メカニズムを持っているが、農薬の暴露によって正反対の方向に形態変化のメカニズムがかく乱されることが示され、農薬単独では生存率に対する影響が軽微な低濃度の暴露であっても、条件によっては生存率の低下をもたらすなどの影響を与えることが示唆された。

2. 平成 18 年度野生生物の生物学的知見研究課題採択状況

平成17年度に実施した4課題について、2件を継続実施課題とし、2件を別途実施課題とした。また、基盤的研究課題として実施されたフィージビリティースタディ中、1課題を追加して研究課題とした。よって、以下の3課題を今年度の調査課題として実施予定である。

- 課題1．野生メダカの性分化異常に関わる基礎的情報の収集と解析
- 課題2．沿岸域を中心とした湖沼生態系攪乱の実態と、そのメカニズムの解明
- 課題3．雌雄同体性魚類の性の可塑性と社会構造に関する研究

なお、17年度に野生生物の生物学的知見研究として実施した、以下の2課題については、今後は作用影響評価検討会における「ばく露情報収集」「ばく露情報評価」の枠組みで実施する。

- 課題 魚介類におけるダイオキシン類蓄積量の比較
(代表研究者：北九州市環境科学研究所 門上希和夫)
- 課題 POPs 及び候補物質による日韓沿岸及び近海の野生生物汚染の実態解明
(代表研究者：愛媛大学沿岸環境科学研究センター 田辺信介)

3. 平成 18 年度研究課題案

課題1．野生メダカの性分化異常に関わる基礎的情報の収集と解析

濱口哲(新潟大学自然科学系)、酒泉満(新潟大学理学部自然環境科学科)

(1) 研究の目的

内分泌かく乱現象は本来、ヒトを含め野生生物に見られる「異常現象」を見いだすことが発端となる。従来、雌雄同体現象などの第二次性徴、外部生殖器の異常、精巣卵の出現を含む配偶子形成の異常、また、性比の偏りなどが「異常現象」として報告されているが、野生生物の性がどのようなしくみで決まり、そもそもそれがどの程度の幅の揺らぎがあるのか、本来、野生生物の性的表現型にどの程度の可塑性があるのかということについての基礎的情報は十分でない。その結果、観察された異変が真に異常なのか、それとも正常な揺らぎの範囲内なのかについて正確に判断することは現状では極めて困難である。そのような観点から、野生生物の性現象の実態について正確な基礎情報の収集は喫緊の課題であると言える。

メダカは、1921年にその性決定様式がXX-XY型であることが明らかにされて以来、様々な研究に用いられている。近年、我々はポジショナルクローニングにより、雄決定遺伝子DMYの同定に成功した。さらに、複数の近交系の開発やゲノム解析など、「実験動物としての整備」が進められていることから、最先端の手法を使つての諸現象の解析が可能となっている。

本研究は、メダカをモデルとして、野生生物集団中に内在する多様な性的表現型を“正常な揺らぎ”の範囲と捉え、野生生物での異変判定における基礎的情報を得ることを目的としている。野生メダカ集団中に見いだされるXX、あるいはXYについて遺伝解析を行い、出現要因が遺伝的なものか、後天的なものかを識別することを通して、性的な揺らぎの幅を推定する。そのことにより、野生メダカに性的異常が認められたとき、それが真に異常な現象か、あるいは正常の範囲内のものかを識別する基本的方法論を醸成する。そのことを通じて、メダカ以外の動物についても、その性的可塑性に関して一定の判断を下すための基礎情報を提供できるものと考えている。

(2) 平成 18 年度研究計画

- ．野生メダカの性転換個体の探索とその原因の解析
 - 1) DMYの有無の判定
 - 2) 不一致個体の原因の検討
- ．性転換を指標とした野生メダカの温度感受性の検討

課題 2 . 沿岸域を中心とした湖沼生態系攪乱の実態と、そのメカニズムの解明

花里孝幸(信州大学山地水環境教育研究センター)宮原裕一(信州大学山地水環境教育研究センター) 中里亮治(茨城大学広域水圏環境科学教育研究センター)

(1) 研究の目的

人間活動の影響を強く受けている湖沼における生物群集の変動を解析し、その変動に影響を与えている人為的要因と自然的要因を明らかにする。それによって、水域を汚染する有害化学物質によって引き起こされる現象、その他の人為的要因を受けた結果としてみられる現象、そして自然的要因によって生じる現象、それぞれを区別することをめざす。

湖岸で水草帯の衰退や魚の死体をみると、その原因を水質汚濁や有害化学物質汚染に求めることが多く、それが住民の水質汚染・汚濁への不安を増幅させているように思われる。ところが、それには必ずしも科学的根拠が伴っていない。本研究では、湖の沿岸域で生じている生態系の変化の様子を明らかにし、それに及ぼす人為的影響(有害化学物質だけでなく、水質汚濁、水位変化、新たな生物種の導入によるかく乱など)と自然的要因による影響を解明する。その成果を公表することによって、水環境の悪化に対する住民の不安の低減に寄与できるものと期待される。

また、最近の研究で、水中の生物たちが、自身がつくって放出している化学物質を介してコミュニケーション(ケミカルコミュニケーション)を行っており、それが生態系を維持する重要な要因として働いていることが明らかになってきた。一方で、その、いわば天然の化学物質を介した生物たちのコミュニケーションが、殺虫剤などの人工の化学物質によってかく乱されることがわかってきた。本研究では、このかく乱の実態を明らかにし、人工化学物質が生態系に与える新たなリスクを評価することも目的とする。

これまでの研究によって、通常の生態毒性試験で得られる化学物質の影響濃度(EC50 や NOEC など)よりも低い濃度でケミカルコミュニケーションがかく乱される例が報告されている。本研究では、このことが様々な生物たちが行っているケミカルコミュニケーションに共通のことか否か、また、それを生じさせている化学物質の種類は何かについて、一定の成果があげられるものと期待できる。この成果は、有害化学物質の生態系リスクの評価に大きな意義がある。

(2) 平成 18 年度研究計画

- ・湖沼沿岸域水草帯における環境と生物の分布と、それを制御している要因の解明
- ・諏訪湖沿岸域水草帯における隔離水界実験
- ・水草帯生態系に及ぼす人為的影響の実験的解析
- ・環境水の毒性評価と、その原因物質の解明
- ・ケミカルコミュニケーションに及ぼす有害化学物質の影響の解明

課題 3 . 雌雄同体性魚類の性の可塑性と社会構造に関する研究

須之部友基(東京海洋大学水圏科学フィールド教育研究センター館山ステーション) 四宮明彦(鹿児島大学水産学部) 櫻井真(鹿児島純心女子短期大学) 萩原清司(横須賀市立博物館)

(1) 研究の目的

本研究では魚類の雌雄同体現象について幅広く研究し、かく乱作用による異常な性転換がどうかを判断する情報を蓄積することを目的とする。様々な雌雄異体種の生殖腺を観察し、どの種で同体現象が出現するのか把握する。モデルとなるような種の個体群構造の動態を研究期間を通じて継続的に観察し、同体個体が出現する原因を生態学的に探る。さらに雌雄同体個体の行動や社会構造のなかで占める地位を観察し、正常な性転換をする種と比較しつつ生態系への影響を明らかにする。

このような研究の成果として雌雄異体魚における雌雄同体現象が正しく理解され、正常なものと異常な場合とのスクリーニングが可能になる。

(2) 平成 18 年度研究計画

- ・ ベニハゼ属の雌雄性と社会構造に関する研究
- ・ 雌雄異体と考えられる種における雌雄同体现象の実態調査と適応的意義の研究

3 . 今後の方針 (案)

採択した 3 課題について、具体的研究内容を調整の上、研究を実施する。また、今後の新規研究課題等についても検討を行う。

なお、「野生生物の生物学的知見研究課題」の本年度成果及び「基盤的研究課題」の本年度成果については、「合同発表会」を本年度末に公開で開催し、評価を行う。

「国際協力関係事業」の枠組みで実施する研究の結果についても、「合同成果発表会」において報告する。