

平成 21 年度 ExTEND2005 野生生物の生物学的知見研究課題、 フィージビリティースタディー及びその他の研究の研究成果概要

野生生物の生物学的知見研究課題(野生 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

研究者：新潟大学大学院 自然科学系：濱口哲(代表研究者)、酒泉満

研究概要: メダカは、ほ乳類以外の脊椎動物で唯一性決定遺伝子が同定されている生き物である。我々は各地から野生メダカを採集して、性決定遺伝子 *DMY* の存否を指標に当該個体の遺伝的性(XX か XY)を調べて、個体の性との異同について検討を行ってきた。研究発足の平成 17 年度までに、約 6,000 個体の野生メダカを調べた結果、おおよそ 1 %程度、遺伝的性と個体の性が一致しない個体(性転換個体)が存在することを見いだした。それらの性転換個体について、それが遺伝的原因によるものか、あるいは後天的要因によるものか順次検討行っているが、これまでに遺伝解析が終了している XY 雌の全てと、幾つかの地点での XX 雄個体の性転換は、遺伝的要因による事が判明している。

XY 雌個体の遺伝的要因が、*DMY* そのもの突然変異か、*DMY* 以外の関連遺伝子の突然変異によるのかについて検討を行っているが、これまでに得られた結果では、全ての例が *DMY* の変異によるものであること、但し、*DMY* の変異によっては雌雄両方の XY 個体が現れ、各個体が雌になるか雄になるかには、さらに常染色体上の別の遺伝子が関与している可能性があることも判明している。また、XX 雄個体についても、その性転換に関与している遺伝子の探索を進めているところである。さらに最近、我々は、発生過程で高温条件におかれたメダカで雌から雄への性転換個体(XX 雄)が現れることを見だし、その出現率に近交系間で系統差があることを報告している。

本研究では、さらに多くの地点からのメダカについて、遺伝的性と個体の性の異同を調べるとともに、得られた不一致個体および、新たに得られるものについて遺伝解析を行い、その原因が遺伝的要因によるのかを検討する。また、後天的要因として、一昨年度は高温暴露、昨年度はエストロゲン感受性の検討を行ったが、本年度はアンドロゲンによる雌から雄への性転換現象に着目し、近交系間の系統差、および、野生メダカのエストロゲン感受性について、地域(系統)差の有無等を検討する。それらの結果から、性ステロイドによる性転換現象に関わる遺伝的多型性について考察する。

研究結果のまとめと考察：本年度の結果から以下のことが明らかになった。

- 1) 野生集団中からは **XX** 雄、**XY** 雌が一定程度存在しているという、従来からの知見が追認された。
- 2) 一昨年度の研究で見いだされた仙台の **XY** 雌は **Y** 染色体に連鎖した性転換であるが、下流の遺伝子の発現動態から判断して、その *DMY* の機能はほぼ正常と見られることから、**Y** 染色体上に *DMY* 以外に性分化に関与する遺伝子が存在していることが示唆された。
- 3) 岐阜県安八郡輪之内の野生集団から見いだされた **XX** 雄の原因遺伝子が連鎖群 **16** の端部に存在することが明らかになった。この遺伝子は劣性の遺伝様式を示す、すなわち、この遺伝子がホモであれば雄、ヘテロであれば雄という遺伝様式であり、擬似的に **ZZ-ZW** 的な雄決定因子として機能していることになる。**LG16** の端部はメダカ近縁種であるジャワメダカの性決定領域と一致しており、極めて興味深い。
- 4) 性転換を指標とした時、**HNI** 系統と **Hd-rR** 系統、**HSOK** 系統との間には **MT** 感受性に明らかな違いが存在することが明らかになった。その違いを生じている **HNI** の対立遺伝子は優性の遺伝様式を示すことが明らかになり、比較的少数の遺伝子の多型であることが示唆された。

野生生物の生物学的知見研究課題(野生2)：アカトンボ減少傾向の把握とその原因究明

研究者：石川県立大学 生物資源環境学部：上田哲行(代表研究者)

宮城大学 食産業学部：神宮字寛

東京農工大学：渡邊裕純

研究概要：この研究は、近年各地で指摘されているアキアカネをはじめ水田依存性のアカトンボ類の急激な減少について、定量的にそれを示すこと及び減少原因を明らかにした上で、その対策を検討することを目的としている。

アカトンボ類の現状把握については、今年度は、北信越地域におけるアキアカネ個体数の地域差の把握に主眼を置いて実施した。広域的な個体数の地域差を把握するために、秋季に車による連結ペア数をカウントすることを中心とした調査を福井県、石川県、新潟県西部で実施したところ、新潟県と福井県で個体数が多く、石川県で少ないというパターンが確認された。これは農薬流通量から推定された減少率のパターンにほぼ一致した。ただし、福井県内では大野市や勝山市で高く、他の地域で低いという、さらにミクロな空間スケールでの地域差も確認された。幼虫調査や羽化数調査によってアカトンボ類の生息が確認された水田の比率は、大体予想パターンに一致していたが、上越市でやや低く、必ずしも秋季の成虫個体数調査の結果と一致しないことも示唆された。また、これらの地域の周辺高地で夏季の越夏個体群調査を実施したが、奥志賀高原を除き、志賀高原や妙高山周辺の個体数は少なかった。白山山系三方岩岳では 1989 年のセンサスで 100mあたり平均 33.4 個体が確認されていたルートでのセンサスでは、2008 年に続き、2009 年も 1 個体も発見されなかった。地域差の生成プロセスを解明するために、今年度は調査を実施できなかった富山県も含めて来年度も調査を重ねる必要がある。

アカトンボ類の急激な減少原因については、これまでの研究により、育苗箱に使用される浸透性殺虫剤、とりわけ全国的に流通量の多いフィプロニルによって引き起こされている可能性の高いことが明らかになってきた。今年度は、アキアカネ、ノシメトンボとともに水田依存性のアカトンボの代表であるナツアカネについてライシメータによる実験を行った。これまでの 2 種ではフィプロニル実験区から全く羽化が見られなかったのに対して、ナツアカネでは、対象区より有意に少ないものの、初期幼虫数の 4% が羽化した。イミダクロプリド区と対象区ではそれぞれ 16% と 18% が羽化した。このように同じアカトンボでも種によって農薬に対する抵抗性が若干異なることが明らかになった。

イミダクロプリドとフィプロニルの水田環境中での動態把握、ならびに箱施用剤の施用方法の違いによる水田環境中での動態への影響を把握することを目的に、ライシメータ、実験圃場においてフィプロニル及びイミダクロプリドの濃度を経時的に測定した。イミダクロプリド及びフィプロニルともに播種時施用で初期濃度が低く、環境負荷を低減する施用方法と考えられた。しかしフィプロニルにおいては、その効果はそれほど顕著ではなかった。土壌表層濃度に関してはほとんど相違

がなかった。両薬剤とも光分解が早いためか、田面水中での濃度減少は早かった。相対的に高水溶性・低吸着性のイミダクロプリドは、フィプロニルに対して特に田面水中で高濃度を示した。フィプロニルは田面水及び土壌での残留期間が長い傾向にあった。フィプロニルの代謝物で特に毒性が強いとされるフィプロニルスルフォンは、移植3日目以降に最高濃度に達し、田面水および土壌では長期間にわたり毒性が高い状態になる可能性が示唆された。なお、農家の一般水田の田面水を使ったアキアカネ及びミヤマアカネ幼虫に対する暴露実験では、移植当日の田面水より、濃度が半減した移植後3日目の田面水の方が高い死亡率を示したことは、上の実験結果と符合するものである。一般水田の田面水のフィプロニル濃度は、実験条件下の圃場やライシメータで測定される最高濃度の10倍以上の高濃度を示す場合がかなりあった。

水田内でのアカトンボ幼虫間のカニバリズム（同種内捕食）とギルド内捕食（アカネ属間の種間捕食）の可能性を検討する実験を行ったところ、ノシメトンボがナツアカネやアキアカネを捕食し、生存率を低下させる可能性が示された。

研究結果のまとめと考察：この研究は、近年各地で指摘されているアキアカネをはじめ水田依存性のアカトンボ類の急激な減少について、定量的にそれを示すこと及び減少原因を明らかにした上で、その対策を検討することを最終的な目的としている。

○減少傾向の把握

過去のセンサスデータがほとんどないため、詳細な経時的変化は明らかに出来なかったが、石川県で過去に行われた水田からの羽化数調査や夏季の山岳地帯での越夏個体群調査との比較により、少なくとも石川県では、アキアカネが1989年当時と比べて、ここ数年は1/100から1/200程度に減少していることが示された。また2007と2008年に赤とんぼネットワーク会員によって行われた全国的な個体数センサスでは、北海道や本州の一部の地域を除き、アキアカネの個体数が100m当たり1以下と、きわめて低密度になっている現状が明らかになった。

アキアカネの急激な減少が始まった時期は、全国のトンボ研究者に対するアンケートから、多くの研究者が2000年頃との印象を持っていることが明らかになり、その頃から全国的に急速に普及が進んだ水稲用の育苗箱施用殺虫剤、とりわけフィプロニルの使用が時期的に符合する要因として浮かび上がってきた。同じアンケートから、必ずしもアキアカネが減少していないという印象をもつ研究者がいる地域も存在すること、すなわちアキアカネの減少程度に地域差のある可能性が示唆され、その後の研究により定量的に確認した。そしてこの減少傾向の地域差もフィプロニル流通量の地域差と対応のあることが示された。

○減少原因の究明

アキアカネをはじめとした水田依存性アカトンボ類の減少原因としては、育苗箱施用殺虫剤以外にも、水稲作付面積の縮小、圃場整備による乾田化、地球温暖化に伴う越夏場所の消失・縮小や競合種の飛来の早期化や増加などさまざまな要因が考えられる。そこで問題を、長期的な減少傾向に影響を及ぼす要因とここ10年ほどの急激な減少をもたらす要因にわけて研究を進めた。その結果、

水稻作付面積の縮小や乾田化、地球温暖化の影響は長期的な傾向であり、アカトンボ類の長期的な減少をもたらしている要因として位置づけられた。それらに対して、育苗箱施用殺虫剤の普及は近年のものであり、とりわけフィプロニルの普及が減少時期と一致していること、ライシメータや圃場での実験、実際の農家の水田での現況調査により、フィプロニルを使用した場合はアキアカネやノシメトンボが全く発生しないことなどから、最近の急激な減少の原因が育苗箱施用殺虫剤、とりわけフィプロニルにあることが明白になってきた。

もちろん、長期的減少をもたらす要因が最近の急激な減少に無関係というわけではなく、両者が関連し合って著しい減少をもたらしている可能性は十分に考えられる。それゆえ、それらの要因の個体数減少への相対的な寄与率を求めていくことは重要であり、それを解明する調査も継続的に行っており、一部の地域では中干しによる幼虫の死亡が無視できないことも明らかになってきた。とくに、相対寄与率を求める必要性から、複数の同一水田での追跡調査を実施してきているが、そのことにより、多数の産卵が行われたにもかかわらず、農薬や中干しの影響により羽化が見られないことを、プロセスとして明瞭に実証できたことは重要な点である。

○残された課題

これまでの研究から、アカトンボ類、とりわけアキアカネの急激な減少の最大原因がフィプロニルであることはほぼ間違いのないことが明らかになってきたが、それをさらに確固たるものにするためには、少なくとも3つの大きな課題があると考えられた。

1つはフィプロニルの水田中での動態の解明とそれに関連したアカトンボ類幼虫の死亡プロセスの解明という課題である。幼虫期間全体を通して評価するライシメータや圃場試験の実験結果はフィプロニルによる死亡率がきわめて高いことを示しているが、これらの実験では、残念ながら幼虫の死亡のプロセスが明瞭でないため、ほかの未知の要因が関与している可能性を否定しきれない。急性毒性試験では低濃度でも致死効果を持つことが示唆されたが、フィプロニルの作用が遅効性であるためか、通常の方法ではライシメータや圃場実験から予想される死亡率が得られていない。また、通常の毒性試験ではより強い毒性結果を示すカルタップ使用水田からは多数のアキアカネが羽化するなど、実験条件下と現実の水田条件下のギャップも無視できない問題として存在する。そこで本年度はこれらの点を解明するために、水田における農薬動態の詳細な分析や稲の移植からさまざまな経過時間の田面水を使った暴露事件などを実施し、以下の点が明らかになった。水に溶け出したフィプロニルそのものは光分解によって急速に低濃度になるが、箱処理剤の特性として土中に粒剤として埋められ、そこから長期間にわたって水中に溶け出すため、土壌や田面水での残留期間が長い傾向があること、毒性がきわめて遅効性であること、そのため評価が非常に難しいが、毒性そのものは濃度によってあまり変わらない可能性があること、フィプロニルの代謝産物であるフィプロニルスルフォンが移植後3日目以降に高濃度になり、アキアカネ幼虫に対する田面水の暴露実験もそれに符合した結果を示したことから、その関与が強く疑われることなどが明らかになった。今後さらに、実験方法を工夫することやシミュレーションモデルを構築して予測検証を行うことで、以上の点がさらに明確なものになると思われる。

第2の課題は、フィプロニルをはじめとした育苗箱施用殺虫剤が幼虫の高い死亡率をもたらすとしても、それはアカトンボ類の死亡要因の1つとなりうることが示されただけであり、急激で広範な個体数減少の要因であることが証明されたことにならないという問題である。1筆の圃場レベルから地域的な空間レベルの問題に広げる必要がある。そこで昨年度は、都道府県別の農薬流通量や水稲作付面積の経時的な変化とライシメータで明らかにされたアキアカネ幼虫期の生存率を元に、いくつかの仮定をおいたシンプルなシミュレーションモデルを使い、主要3種の育苗箱施用殺虫剤の影響によって、各都道府県別にアキアカネがどの程度減少するかを計算した。その結果、それらの農薬が使われる以前に比べて、多くの都道府県でアキアカネが1/100から1/1,000に減少している可能性や地域差が生じることが明らかになった。計算によって算出された石川県での推定減少率は、実際の調査で得られていた1989年に対する2008年の減少率ときわめて近いものであった。

今年度は、シミュレーションモデルによって推定減少率の地域差と現在の個体数の地域差が一致するかどうかを検証することを試みた。全国的に精度高く行うことは困難なので、推定された地域差が明瞭な、新潟県を含む北陸4県に焦点を当てて調査を行った。その結果は、ほぼ予想を満たすものであった。今後は、福井県で観察されたような、より狭い空間スケールでの地域差を説明する必要があるが、この点に関しては、シミュレーションモデルの空間単位を小さくすることで対応できると考えている。そのためには農薬流通量を都道府県単位ではなく、もっと狭い単位で集計する必要があるが、公表されたデータは存在しない。そこで来年度はJAに依頼して情報収集を行い、各JA管轄地域別に減少率を求める予定である。

なお、モデルに組み込んだ3種の農薬の内、ジノテフラン（スタークル）については生存率データがないため、同タイプのイミダクロプリドの値を使ったが、来年度はライシメータによる試験でそれを明らかにする予定である。また、ライシメータによる実験から死亡率が明らかになったノシメトンボとナツアカネについても同様の減少率計算を実施する。

さらに、唯一減少率が明らかな石川県のデータから、減少率としてではなく、ある程度実数として把握できるモデルを作ることを検討する。たとえば、水稲作付面積と個体数が比例するとして初期個体数を与えることを検討する。それにより予測される個体数密度と実際に観察される密度とを他の地域でも比較することが可能になると考えている。

第3の課題はアキアカネにおける個体数の地域差生成プロセスの問題である。アキアカネの高い移動性や夏季の高地への長距離移動を考慮すると、都道府県を単位として育苗箱施用殺虫剤にある程度対応した個体数の地域差がなぜ生じるのかが問題になる。つまり、秋季の成虫個体数（一般的にはこの時期の個体数によりアキアカネの減少が問題とされている）の地域差が、農薬の影響を反映したそれぞれの地域からの発生数の差に起因するものかどうかを、地域差生成のプロセスを丹念に追跡することで確認することが必要である。この問題は、これまでほとんど明らかになっていないアキアカネの長距離移動の問題（移動方向や移動範囲など）を解明することにもつながる興味深い問題である。

このテーマに関しては、新潟県西部を含む北陸4県とその周辺の山岳地帯を調査地として、本年

度から調査を開始した。その結果はまだまだ不十分ではあるが、秋季の成虫個体数の多い地域で、アキアカネが羽化する水田の比率が高い傾向のあることが明らかになった。ただ、上越市では秋季の成虫個体数で期待される比率よりやや低い結果になった。夏季の越夏個体群の調査では、高密度が期待された妙高山など上越市周辺の山岳地帯で必ずしも密度が高くないという結果になった。また、白山地域の個体数の少なさは石川県での個体数減少を反映したものだと考えられるが、一方で福井県、とくに白山に接する大野市や勝山市では高密度の成虫が観察されており、白山での低密度と対応しない。このように、夏季の山岳地帯での調査は、調査回数が限られていたこともあるが、低地の羽化個体数や繁殖個体数の地域差と必ずしも対応していないという結果になった。この点については、来年度にさらに継続して調査を進めて行く必要がある。

このようにアキアカネの移動性が地域差生成に影響を及ぼしている可能性が本年度の研究から示唆されたが、この点を明確にするために、アキアカネほど移動性が低くなく（少なくとも県レベルの範囲を超えての移動はないと思われる）水田依存性の強いノシメトンボとナツアカネの個体数の地域差を調べ、アキアカネの結果と比較することを考えている。これらの種を対照とすることで、アキアカネの移動性の高さが地域差生成に及ぼす影響が明瞭になると思われる。さらにいえば、将来的には何らかのマーカースを使って、より直接的にアキアカネの移動を解明することを検討していきたい。

野生生物の生物学的知見研究課題(野生3): シャジクモ類の衰退要因解明に向けた環境負荷化学物質の影響に関する生理・生態学的研究

研究者：筑波大学大学院 生命環境科学研究科：白岩善博(代表研究者)

神戸大学大学院 理学研究科：坂山英俊

研究概要：

1. 現存するシャジクモ類の生態観察および生育状況の調査を行ない、自然界における生殖器官形成について観察する。
2. 野生絶滅種・絶滅危惧種シャジクモ類に対する環境負荷化学物質（農薬、富栄養化をもたらす栄養塩、内分泌かく乱物質等）の影響について、光合成活性を指標としてその短期的影響について解析する。
3. 生態観察データを参考に、実験室内における培養を行い、シャジクモの生殖器官形成の制御要因を明らかにする。それに基づき、シャジクモの生育と生殖器官形成に及ぼす環境負荷化学物質（富栄養化をもたらす栄養塩、内分泌かく乱物質等）の長期的影響について解析する。

研究結果のまとめと考察：光合成活性測定による種々の環境負荷化学物質の短期影響の評価と、効果のある薬剤の選抜には有効な方法である。しかし、除草剤、殺虫剤系以外の薬剤の場合には光合成光化学系の阻害効果が期待できない場合には実験を行わず、培養実験による長期的影響を直接に観察する方法が有効である。

日光湯の湖におけるフィールド調査から、シャジクモの成長と生殖器官形成に有効な環境要因および生理的要因を解明する手掛かりを生態観察から得ることが有効であることが本研究でも示された。本生態調査から得られた知見として、日長変化や紫外線と生殖器官形成に何らかの関係があるのではないかという可能性が示唆されたことは大きな成果であり、培養実験において詳細に研究されるべき課題として残されている。

試験管を用いて、成長の定量的測定が可能な培養実験系を確立したことは本研究の大きな成果である。

その確立した培養系を用いて、内分泌かく乱物質ビスフェノール A フタル酸ジ n ブチルおよびフタル酸ジエチルが、シャジクモの成長には影響がなく、生殖器官形成と成熟を抑制する効果を有することを発見したことの意義は大きい。今後、様々な生態系に適したさまざまなシャジクモの種を対象に、可能な限りの環境負荷化学物質の影響を、今回成功した培養実験系と生殖器官形成条件を活用して研究することが必要であることを強調したい。

以上の実験系を利用して、様々な環境負荷化学物質が、絶滅危惧種であるシャジクモに与えた影

響を高い精度で精査し、絶滅危惧種の衰退要因を解明し、それらの原因の除去による復元に向けた基礎的知見を集積することが重要である。そして、シャジクモの復元、そして湖沼生態系の復元を達成することが望まれる。

20 年度採択フェージビリティースタディー研究課題(20F S 1) : 魚食性猛禽類「ミサゴ」の生態とその食物連鎖に関する基礎的研究

研究者：岩手県立大学 盛岡短期大学部 生活科学科：千葉啓子(代表研究者)

岩手県立大学 総合政策学部：由井正敏、平塚明

岩手大学 工学部：海田輝之

岩手医科大学 医学部：世良耕一郎

いであ株式会社 環境創造研究所：菅木洋一

研究概要：環境中の汚染化学物質によって生態系では食物連鎖の上位にいる猛禽類、とくに魚食性の猛禽類により影響が大きく現れるといわれているが、その実態は余り明らかになっていない。近年では、本来、海岸部をおもな生息地としてきたミサゴが内陸部へ進出し観察されているが、その原因も明確ではない。そこで我々は、岩手県内陸部のダム湖近傍を生息地とする魚食性猛禽類ミサゴを対象とし、その生態調査開始した。本年度は、ミサゴにおける環境汚染化学物質の影響について検討することとし、昨年度までの生息状況、繁殖状況および採餌行動等について収集された調査内容をもとに、幼鳥生育期に採餌行動が頻回になる親鳥、或いは巣立ち後の幼鳥を捕獲し、血液他ミサゴ生体試料の採取を計画した。収集した試料および前年度採取したミサゴの捕食対象魚類中の PCB、DDT 等残留性有機汚染物質（以下、POPs）およびフェノール類等内分泌かく乱作用を有する化学物質(以下、内分泌かく乱物質)等について分析し、調査地生態系内でミサゴのおかれている現状を把握することにより、魚からミサゴへの食物連鎖に関する基礎的知見を得ることを目的とした。しかしながら、本年度は調査対象のミサゴが繁殖行動に失敗し、そのため採餌行動の回数が少ないことなどから捕獲に至らず、当初の計画は遂行できなかった。そこで、調査期間中に近傍で保護されたミサゴ亜成鳥から採取した血液試料を用いて POPs 及び内分泌かく乱物質の分析を実施し、ミサゴにおける実測値の定量を検討中である。

研究結果のまとめと考察：四十四田ダム湖で採捕した魚類中のフェノール類（湿重量当たりの濃度）を以下に示す。ビスフェノール A はいずれの魚種からも検出され、濃度範囲は 170～690 μ g/kg であった。ノニルフェノールもすべての魚種で検出され、濃度範囲は 5.4～200 μ g/kg であった。4-t-オクチルフェノールは検出下限値未満が多く、検出された魚種でも 0.4～3.2 μ g/kg と低値であった。

POPs（湿重量当たりの濃度）では、PCBs、アルドリン、クロルデン類、DDT 類、ディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル類、HCB、HCH 類、マイレックス、トキサフェン類の 11 物質の殆どが「環境省平成 19 年度 POPs モニタリング調査結果」の魚類における検出範囲内であった。

21 年度採択フェージビリティースタディー研究課題(21F S 1) : 底生甲殻類の成長や成熟に見られる異常のスクリーニングと環境の影響評価に関する研究

研究者：岡山大学 理学部：三枝誠行(代表研究者)、山崎美穂、J. Ubaldo、細川雄平

日本海区水産研究所：高田宜武

岡山県水産試験場：増成伸文

農業生物資源研究所：畠山正統

水産総合研究センター：姜奉廷

研究概要：海産甲殻類では、しばしば形態異常や発生異常（奇形）が見られる。それらの中には頻度が高く、明らかに正常な範囲を超えている場合がある。本研究は、泥干潟に生息する十脚甲殻類であるアナジャコ類（*Upogebia*）を対象にして、正常な範囲を超えており、環境汚染との関わりが強いと考えられる奇形を調査し、奇形の発現にかかわる原因化学物質の特定と奇形の発生機構を、特に内分泌かく乱という視点で解析することを目的としている。

アナジャコ類は、雄性生殖器や雌性生殖器と言える外部器官は無いが、雄雌には明確な形態的な違いがある。雌雄を区別する特徴のひとつとして、雌の腹節には 5 対の附属肢（以下「腹肢」と呼ぶ。）が生えるのに対し、雄は第 1 腹肢を欠くため、4 対の腹肢しか見られないことが挙げられる。

私たちは、今まで瀬戸内海に広がる多くの干潟のアナジャコ類を調査し、笠岡湾の干潟に生息するアナジャコ（*U. major*）の‘雄’には、非常に高率で第 1 腹肢が生えていることを発見した。これら雄の第 1 腹肢は、雌の第 1 腹肢のように担卵毛が見られず、形態的にも単純化していることから、奇形の 1 種とみなしてよいであろう。このような奇形が笠岡湾で有意に高いのは、環境と関連する因子が作用していることを示唆する。

さらに、笠岡湾では、雄と雌の両方で、第 1 腹節に黒い‘傷’のある個体が多く発見された。傷の原因は、アナジャコの腹節に付着するシタゴコロガニ（*Sestrostom* sp.）による外被（クチクラ）の食害が原因と考えられ（Itani, 2002, 2004）、傷は自然治癒する（あるいは死亡する）過程で発生する生体防御反応と考えられる。傷の深さは黒い斑点から、腹節全域がひどく侵されている個体までさまざまな程度であった。シタゴコロガニは、どこの干潟にも生息しているから、笠岡湾では、食害によって発生した腹節の傷を直りにくくする因子があると考えられる。

笠岡湾は、1968 年から始まった干拓により、著しい軟泥層（ヘドロ）の蓄積が起きた。そればかりではなく、ヘドロの中には残留農薬、ハロゲン化物、重金属などが高濃度に蓄積していることも報告されている（Fukue *et al.*, 2003）。アナジャコにとって、海底の泥は生活と密接に関わっており、環境汚染化学物質が奇形や傷の自然治癒の遅延に関わっている可能性は高い。

一方では、底質に含まれた環境汚染化学物質の量と、異常発生の割合との相関を知るだけでは、実際に影響を与えている要因に関して単なる推測の域を出ない。環境因子の影響を効果的に評価で

きる実験系の開発が必要である。

最近、甲殻類における内分泌かく乱の例として、寄生を含めて様々なタイプの事例が報告され始めている (Ford *et al.*,2004、Ayaki *et al.*,2005、LeBlanc, 2007)。しかし、甲殻類には、性成熟が起きた後にも雌雄両性的な生殖形質を持つ種類が少なくない。アナジャコ（オナモミ）の雄に見られる卵巣 (ovarian part of testis) や、ナルトアナジャコ（オナモミ）の雄に見られる雌性生殖口がその典型的な例である。脊椎動物の事例をそのまま甲殻類に当てはめているために、実際には内分泌かく乱とは違った正常な現象までも、それに含めているケースも目立ち始めている。

脊椎動物では、第 2 次性徴の発現に内分泌システムの果たす役割が大きいのに比べ、甲殻類では第 2 次性徴の発現は、性の転換等も含め、遺伝子によって制御を受ける可能性もある。これらの点を考慮し、本研究はまず甲殻類の成長・生殖・形態において、どこまでが正常な事例と考えてよいかを示し、その上に立って環境汚染化学物質の影響を評価し、そのメカニズムを解明することを目的としている。

研究結果のまとめと考察：

○海洋の富栄養化が干潟生物に与える影響：体長、成熟サイズ、そして生活史サイクルの地理的変異：正常な範囲と考えられる事例について

- ・成長パターンは環境因子の影響、特に富栄養化の影響を強く受ける。甲殻川個体群では、春から初夏にかけて個体群密度の著しい減少が見られたが、これは梅雨の影響で河口の塩分濃度が長期間にわたって相当に低下したためと思われる。個体群密度の違いは、定着後の死亡率の違いを反映していると考えられる。
- ・佐方川ではこれ以上富栄養化が進行すると、笠岡湾と同様にヘドロの堆積が見られるようになるだろう。その場合には、個体群は消滅する可能性が高いが、その前触れとして腹節に異常肢の生えた個体の割合が増加すると予想される。

○富栄養化の著しく進行した干潟における異常肢の発現について

- ・瀬戸内海の多くの干潟で採集したアナジャコ（オナモミ）の腹肢の異常を調べ、笠岡湾に多発することから、笠岡湾の干拓にともなう環境汚染と強い関係があることを示唆した。

平成 21 年度の予備的研究により、人工巣穴をネットに入れて棧橋から吊るすという方法でアナジャコを個別飼育することが可能になり、アナジャコの成長や奇形の発生に影響を及ぼす環境因子を推定することができるようになった。

一方、実験室で重金属やハロゲン化物を使ったアナジャコ（オナモミ）の飼育実験は、廃液処理の問題をクリアしてから実験を始める必要がある。

○富栄養化の著しく進行した干潟に生息するアナジャコ（オナモミ）の腹節に見られる傷について

- ・第 1 腹節に見られる‘傷’は、シタゴコロガニ（シタゴコロガニ）の寄生によって生じたもので、傷が生じること自体は汚染とは関係ないことだろう。問題は、傷を持った個体が笠岡湾に多発することである。

笠岡湾以外の干潟ではほとんど見られない現象なので、シタゴコロガニが笠岡湾のみに生息するという可能性も捨て切れないが、笠岡湾では傷が治癒せず長く残ったり、あるいは最初についた傷が広がってしまった、という可能性の方が高いのではないだろうか。富栄養化が著しく進行してヘドロの堆積が顕著になっている笠岡湾に、傷の自然治癒を遅らせる原因（物質かどうかはわからない）があると考えられる。

この課題についても、人工巣穴を使ったフィールド実験が有効と思われるので、平成 22 年度から実施したい。

○アナジャコ類の摂取する有機物の存在形態と成長解析について

- ・成長に必要な栄養分が、泥にはある程度は含まれているが、正の成長ができるほどの量ではない。

人工巣穴を海水中に吊るしておく、正の成長になるので、海中を漂っているもの、すなわちプランクトンを摂食している可能性が高い。泥と一緒に摂食してしまい、消化されずに消化管内に溜まっていると考えてよいだろう。クロレラ、冷凍ワムシ、冷凍コペポータ、微粒子配合飼料、キイトセラス（藻類）の効果を確認する実験を開始する。

○干潟の甲殻類の成長、生殖サイズ、および生殖時期の発現に関わる遺伝的要因の解析について

- ・ヨコヤアナジャコには、大きな遺伝的多様性が見られるが、瀬戸内海の個体群と高知の個体群では、生活史形質の違いには、遺伝的要因よりも環境要因の影響が強く作用していることが示唆された。

21 年度フィージビリティースタディー研究課題(21F S 2) : 改良型ミジンコ繁殖毒性試験を用いた新たな数理生態学的解析手法の検討

研究者 : 国立環境研究所 環境リスク研究センター : 田中嘉成(代表研究者)、鎌迫典久

研究概要 : ミジンコの繁殖阻害試験 (OECD TG211) のデータを基にして生態系におけるポピュレーションダイナミクスを解析した例は多数あるが、母系からの影響、産仔仔虫性比の影響、スパイク曝露と連続曝露の違い、回復性試験などの結果について数理的考察を加えて生態リスクを解析した例はほとんどない。試験法の条件設定の妥当性およびその解析法を融合させた、環境リスク評価に有効な新規手法を検討する。

数理モデルによるシミュレーションに必要な繁殖毒性試験データの収集を行う。幼若ホルモン作用をもち、すでにミジンコ雄仔虫生産誘導効果が確認されている昆虫成長制御剤をモデル化学物質として用いて OECD TG 211 に準拠した繁殖毒性試験を行い、繁殖開始時期、産仔数、仔虫性比、試験個体の生死等のデータを得る。また曝露シナリオの違いが産仔数や仔虫性比へどのように影響してくるのかを調べるために、平均曝露濃度は同じであるが一定濃度曝露の場合とパルス曝露の場合の2通りの曝露デザインで、OECD TG 211 をベースとした実験を行う。生態リスク評価のため、性比攪乱作用を組み込んだミジンコ個体群変動モデルを作成し、内分泌攪乱作用とその他の一般化学物質の個体群レベル影響を比較評価できる生態リスク評価法を開発する。

研究結果のまとめと考察 : 定常曝露による繁殖毒性試験の結果、ピリプロキシフェンは昆虫や甲殻類の幼若ホルモンおよびその類似化学物質である昆虫成長制御剤のなかではフェノキシカルブと同程度の濃度で産仔数、オス仔虫生産誘導に影響があることが確かめられた。またピリプロキシフェン曝露では、他の大部分の幼若ホルモン様作用を持つ昆虫成長制御剤と同様にまず総産仔数に影響が出て、それより高濃度でオス仔虫生産が誘導されることが示された。このため、総産仔数と仔虫性比への影響を考慮し LOEC、NOEC を求めると、実質、総産仔数への影響を見るだけになってしまう。しかしながら総産仔数という数の反応と、仔虫性比という質の変化がそれぞれ最終的に個体群レベルでどのような影響を持つのかについての検討を抜きにして、単純に LOEC、NOEC だけに毒性情報を集約してしまうことについては議論の余地がある。今後、化学物質曝露のタイミング・頻度・強度などの要因とともに、生物の質と数への影響が個体群レベルではどのような違いとして反映されてくるかを予測・評価できるモデルの開発、そしてそれを裏付ける実証データの収集を行い、化学物質の新規生態毒性評価手法の確立を目指したい。

21 年度その他の研究課題(課題 3) : 生物蓄積性内分泌かく乱候補物質によるわが国の野生生物汚染の実態解明

研究者 : 愛媛大学 沿岸環境科学研究センター : 田辺信介(代表研究者)、高橋真、磯部友彦

研究概要 : 本研究の目的は、既存の POPs (Persistent Organic Pollutants: 残留性有機汚染物質) と類似の内分泌かく乱作用や生態系の汚染が懸念されている有機臭素系難燃剤など新たな環境化学物質に注目し、わが国の野生生物における汚染実態、曝露量調査・蓄積特性等について解明することにある。

最近になって有機臭素系難燃剤など新たな環境化学物質が登場し、既存の POPs と類似の内分泌かく乱作用や生態系の汚染が危惧されている。本研究では、生物蓄積性の有機臭素系難燃剤として知られる PBDEs (ポリ臭素化ジフェニルエーテル) および HBCDs (ヘキサブロモシクロドデカン) に注目し、琵琶湖の魚食性鳥類、カワウをモデル生物として汚染実態・曝露量調査・蓄積特性等のサブテーマに取り組む。カワウは愛媛大学の生物環境試料バンクに冷凍保存されている試料を活用するが、餌生物を含め一部試料を新たに捕獲・収集する。分析は既法に従うが、鳥類試料に適した方法を事前に検討する。PBDEs については、化学構造が類似している PCBs (ポリ塩化ビフェニール) と対比し、その蓄積特性の相違を詳細に解析する。HBCDs が検出されれば、鳥類で初めての汚染実態報告となる。

なお、当該年度は、琵琶湖カワウの汚染実態と曝露量調査および成長に伴う濃度変動や生物濃縮などの蓄積特性について研究を展開した。次年度以降は、汚染の地域比較、母卵間移行、経年変化などの研究を計画している。

研究結果のまとめと考察: ポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDEs) やヘキサブロモシクロドデカン (HBCDs) などの臭素系難燃剤 (BFRs) は、新たな残留性有機汚染物質 (POPs) として近年高い学術的・社会的関心を集めている。ポリ塩化ビフェニール (PCBs) と同様に、BFRs もさまざまな環境試料や野生生物から検出されているため、環境残留性や生物蓄積性、甲状腺ホルモン恒常性の攪乱などが懸念される。すでに欧米では野生動物に関する BFRs 汚染の調査・研究が実施され、高等動物から比較的高い濃度で検出されている。一方、日本の BFRs 汚染に関する知見は乏しく、とくに高等動物を対象とした報告例は極めて少ない。そこで本研究では琵琶湖水系に棲息するカワウ (*Phalacrocorax carbo*) を対象に BFRs 汚染の実態解明を試みた。琵琶湖は閉鎖性水域であるため POPs 等の有害化学物質に関する汚染調査が進められ、高濃度汚染地帯であることが明らかにされている。カワウは食物連鎖の高次に位置する魚食性鳥類でその行動範囲が比較的狭いことから、琵琶湖水系の化学汚染を理解するための指標生物として有用であると考えられる。そこで、成長段階(雛鳥・幼鳥・成鳥)による BFRs の濃度変動や餌生物を介した生物濃縮性の違いについても既存の POPs である PCBs と比較しながら解析した。試料は雛鳥、幼鳥、成鳥の胸筋と肝臓に加え、生物

濃縮係数(Biomagnification factor: BMF)を算出するため胃内容物も分析に供試した。

分析したすべてのカワウ試料から BFRs および PCBs が検出され、雛鳥、幼鳥、成鳥、胃内容物ともに PCBs > HBCDs > PBDEs の濃度順位であった。本研究により初めて、日本の鳥類の HBCDs 汚染を明らかにした。とくに成鳥の HBCDs 濃度(平均: 480 ng/g lw. 最大: 1300 ng/g lw.) は高く、PBDEs 濃度(平均: 75 ng/g lw. 最大: 200 ng/g lw.)より 1 桁高値を示したため、琵琶湖水系における HBCDs の環境負荷は相対的に増大していることが推察された。また、すべての物質で体長増加にともなう濃度上昇がみられ、年齢蓄積性が示唆された。さらに、胃内容物の濃度と胸筋濃度から生物濃縮係数 (BMF) を算出した結果、PCBs (13) > PBDEs (8) > HBCDs (3) の順であった。また、PCBs、PBDEs、HBCDs で異性体ごとの BMF 値は大きく異なった。すなわち、PCBs、PBDEs とともに高ハロゲン化異性体は低ハロゲン化体よりも概して高い BMF を示した。これは、高ハロゲン化異性体が低ハロゲン化体よりも高い脂溶性 (log Kow) を有するためと考えられる。しかし、類似の脂溶性を示す異性体においても BMF のバラツキがみられ、その傾向は PCBs と PBDEs で異なった。例えば、PCBs の中で安定な異性体として知られる CB 153 や CB 183 はカワウにおいて高い BMF を示したが、類似の構造をもつ BDE 153 や BDE 183 では後者は顕著に低い BMF を認めた。その他の異性体でも PBDEs は PCBs よりも低い BMF を示すものがあり、生体内における脱臭素化など両者の代謝・排泄メカニズムが異なるためと考えられた。

以上のことから、琵琶湖水系には相対的に大きな HBCD 汚染源が存在すると考えられ、今後継続的なモニタリング調査が必要である。とくに、曝露量のちがいによる地域差や経年変動など汚染の時空間分布を解析する研究が求められる。また、PBDEs は PCBs とは異なる生物蓄積性、すなわち、特異な代謝・排泄メカニズムがカワウでみられたことから、このような傾向を他の高等動物で検証することも今後の課題であろう。