ヌカエビを用いた 17β -エストラジオールの繁殖影響

多 田 満* 軽 部 智 美** 小神野 豊**

Effects of 17β -estradiol on the Reproduction of Freshwater Shrimp, *Paratya compressa improvisa*

Mitsuru TADA*, Tomomi KARUBE** and Yutaka OGAMINO**

* Endocrine Disruptors & Dioxins Research Project, National Institute for Environmental Studies, 16-2, Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan

** Kawakami Farm, Inc., 4041, Obari, Ina, Ibaraki 300-2353, Japan

Abstract

In this study, we investigated the effects of an endocrine disruptor, 17β -estradiol, on the reproduction of freshwater shrimp, *Paratya compressa improvisa* (Natantia, Decapoda, Crustacea). Female shrimps with fertilized eggs were exposed to 0.1, 1.0, and $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 17β -estradiol. Larval mortality after 14 days of hatching for these female shrimps significantly increased from 2.0% in the control group to 66–80% in the exposed groups. On the other hand, when larvae of this species, obtained within 24 h after hatching, were exposed to 0.1, 1.0, and $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 17β -estradiol, larval mortality after 14 days of hatching slightly increased from 2.0% in the control group to 3.9–9.2% in the exposed groups. The sex ratio (female/male) of adults exposed to 17β -estradiol changed markedly from 1.1 in the control group to 0.5 in the exposed groups at 1.0 and $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Female shrimps with fertilized eggs were observed after 150 days of hatching in the control group and the exposed groups at 0.1 and $1.0\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. The larval mortality of the next generation after 14 days of hatching gradually increased from 0.8–3.4% in the control group to 8.1–16% in the exposed group at $0.1\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ and 64–84% in the exposed group at $1.0\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. These results suggest that this compound affects the reproduction of this species.

Key words: endocrine disruptor, 17β -estradiol, reproduction, larval mortality, *Paratya compressa improvisa*

1. はじめに

人工の化学物質は産業排水や生活排水として河川や湖沼に排出され、水界（淡水）生態系を構成する甲殻類・水生昆虫などの無脊椎動物にもさまざまな影響を及ぼすと考えられる。近年、内分泌かく乱化学物質と呼ばれる化学物質の環境汚染とそれによる生態系への影響が危惧されている^{1,2)}。今回試験に用いた 17β -エストラジオールは、人由来の女性ホルモンであるが工場や生活排水に含まれていることが知られており、環境中に比較的検出される内分泌かく乱化学物質としてはその代表的なものである^{3,4)}。これまでノニルフェノールなどの内分泌かく乱化学物質による魚類など脊椎動物への影響が報告されているが^{5–8)}、動物界の95%を占めるといわれる無脊椎動物への影響に関心が高まっている⁹⁾。しかしながら、これら化学物質が淡水の無脊椎動物の生存や繁殖などに影響を及ぼしたという報告は、甲殻類のミジンコ¹⁰⁾や昆虫類のユスリカ¹¹⁾、チカイエカ^{12,13)}、イトトンボ¹⁴⁾などごくわずかである。

このうち甲殻類は、これまで微小なミジンコ類を用いて試験が行われてきたが、エビ類など比較的大型の甲殻類を用いた試験は知られていない。国内の淡水産エビ類には、スジエビ、テナガエビ、シマエビ、ヌマエビ、ヌカエビなどが知られるが、各地の水路、河川、湖沼などに発生し、底質表面の有機物を効率よく消費し、魚類などの餌となって生態系の維持に重要な役割を果たしていると考えられる。また、戦後農薬類が多量に使用され始められるまでは、大量に発生し、乾燥・保存が効くことから日本人の重要なタンパク資源になっていたが、スジエビやテナガエビなど一部のエビ類はいまでも水産資源として利用されている。なかでも本研究で用いたヌカエビ (*Paratya compressa improvisa*, 十脚目, 遊泳亜目) は、他のエビ類のように共食いをすることがなく、室内での飼育が比較的容易であるため試験生物として継代飼育されている唯一の種である。メスでも体長30mm 未満の小型の淡水産エビ類で、農薬等の化学物質の毒性に対し高い感受性を示すことが知られている¹⁵⁾。また、性比に偏りがなく化学物質の繁殖に及ぼす影響を調べるのにも適

* 独立行政法人国立環境研究所環境ホルモン・ダイオキシン研究プロジェクト 〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2

** (株)川上農場 〒300-2353 茨城県筑波郡伊奈町大字小張4041

している。本種は、これまで河川水に残留する殺虫剤等の化学物質の生存に及ぼす影響を調べるため、産仔後28日目の稚エビが試験に用いられてきた^{16,17)}。本種の成熟メスは、80~120個程度の卵塊を幼生に孵化するまで腹部に抱卵する。

本論文の目的は、 17β -エストラジオールのヌカエビ抱卵期曝露による幼生の死亡率と抱卵メスの出現率への影響、ならびに幼生期曝露による幼生・稚エビの死亡率、親エビの性比・抱卵メスの出現率と次世代幼生の死亡率への影響など生存や繁殖に及ぼす影響を検討したものである。

2. 実験材料と方法

2.1 実験材料

今回実験に用いたヌカエビは1980年代に東北大学より分与されたものを、国立環境研究所水生生物実験棟の屋内自然光水槽で継代飼育したものである。人工環境室(光周期14時間明, 10時間暗, 室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$)に設置したガラス製の角形水槽(20×30cm, 深さ20cm)2個に飼育水を6 l 入れ、それに成熟したメス個体とオス個体(Fig. 1)をそれぞれ10頭ずつ入れメス個体が抱卵するまで養鱒稚魚用配合飼料(No. 4 C-DX, 日本配合飼料 K.K.) (以下、

Fig. 1 Female shrimp with fertilized eggs and male of *Paratya compressa improvisa*

Fig. 2 Larva of *Paratya compressa improvisa*

配合飼料) を毎日各水槽あたり30mg 与えて飼育をおこなった。飼育水は水道水を100 l 容量のガラス水槽に満たし、温室内で、3~4日間ばっ気して脱塩素したものである。 17β -エストラジオール(純度99.0%, 和光純薬工業 K.K.) は、アセトン(純度99.0%, 和光純薬工業 K.K.) に $1,000\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の濃度で溶かし試験原液とした。

2.2 ヌカエビ抱卵期の曝露試験

人工環境室(光周期14時間明, 10時間暗, 室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$)において、抱卵後24時間以内のメス4個体を飼育水1 l を入れた1 l ビーカーに1個体ずつ入れ、対照(アセトン)、ならびに 17β -エストラジオールを0.1, 1.0, $10\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ の濃度で内分泌かく乱化学物質等の微量化学物質の影響を受けやすい卵発生期にあたる抱卵時の最初にそれぞれ曝露して、その後の産仔、幼生以降の生存、ならびに繁殖に及ぼす影響について検討した。抱卵メス個体(Fig. 1)が産仔するまで配合飼料を毎日各ビーカーあたり3 mg 与えた。抱卵期間はおおよそ14日間で幼生を産仔した。なお、薬剤曝露は抱卵後1回のみで抱卵期間中の水換えは行わなかった。産仔後、メス個体をビーカーから取り出し、さらにビーカーの飼育水を幼生(Fig. 2)とともにガラスシャーレに取り出し、ピペットを用いて幼生の個体数を調べた。その後、飼育水1 l を入れた1 l ビーカーに幼生を移し、幼生の餌としてクロレラを各ビーカーあたり $5\mu\text{g dry weight} \cdot \text{l}^{-1}$ 与えた。同様に幼生から稚エビとなる産仔後7日目と14日目の稚エビの個体数を調べた。産仔7日後から産仔30日後の稚エビには、親エビと同様、配合飼料を各ビーカーあたり3~12mg 与えた。さらに産仔30日後には、ガラス製の角形水槽(20×30cm, 深さ20cm)に飼育水を6 l 入れ、それに各ビーカーの稚エビをそれぞれすべて入れ、メス個体が抱卵するまで稚エビの成長に合わせて配合飼料を各水槽あたり12~60mg 与えて稚エビから親エビになるまで観察をおこない、稚エビの生存、親エビの性比と抱卵、産仔に及ぼす影響を調べた。稚エビの生存についてはほぼ毎日観察をおこない、水槽に移行した産仔後30日目、150日目の稚エビの個体数を調べた。親エビの性比については外部形態(第2腹肢雄性突起など)で判別した。水槽の水換えは週1回おこなった。抱卵したメス個体は飼育水1 l を入れた1 l ビーカーに1個体ずつ入れ、産仔するまでの期間、配合飼料をビーカーあたり3 mg 与えて観察を続けた。最初の抱卵メス個体が出現するまでにおおよそ150日の期間を要した。試験はさらに30日間おこなって、その期間に出現した抱卵メス個体の産仔、ならびに産仔後14日目の稚エビの個体数を調べた。

2.3 ヌカエビ幼生期の曝露試験

2.2の試験と同様に抱卵後24時間以内のメス4個体を飼育水1 l を入れた1 l ビーカーに1個体ずつ入れ、産仔するまで配合飼料を各ビーカーあたり3 mg 与えた。産仔後24時間以内に、メス個体をビーカーから取り出し、さらにビーカーの飼育水を幼生とともにガラスシャーレに取り出し、ピペットを用いて幼生の個体数を調べた。その後、飼育水1 l を入れた1 l ビーカーに幼生を移し、対照(アセトン)、ならびに 17β -エストラジオールを0.1, 1.0, $10\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ の濃度でそれぞれ曝露して、クロレラを各ビーカーあたり $5\mu\text{g dry weight} \cdot \text{l}^{-1}$ 与えた。なお、薬剤曝露は産仔後の幼生に1回のみで幼生期間中の水換え

は行わなかった。その後、幼生期以降の生存、ならびに繁殖に及ぼす影響について検討するため2.3と同様に稚エビとなった産仔後7日目以降から配合飼料を与えて稚エビから親エビになるまで観察をおこない、幼生ならびに稚エビの死亡数、親エビの性比と抱卵、産仔に及ぼす影響を調べた。

3. 結 果

3.1 ヌカエビ抱卵期曝露による幼生の死亡率への影響

抱卵後24時間以内のメスに17β-エストラジオールを対照（アセトン）0.1, 1.0, 10μg・l⁻¹の濃度でそれぞれ14日間曝露して、産仔された幼生の個体数、産仔後7日目、ならびに14日目の幼生の死亡率をTable 1に示した。幼生はFig. 2に示すように体長およそ2 mmで、産仔直後から水中に浮遊しクロレラを摂餌し、産仔およそ7日後からピーカー内壁に付着するようになる。産仔後7日目の幼生の死亡率は曝露区で35～73%であった。産仔後14日目の稚エビの死亡率は曝露区で66～80%と対照区の2.0%と比べて極めて高くなった。

さらに稚エビを水槽に移した産仔後30日目と親エビの

抱卵の始まる産仔後150日目の稚エビの死亡率、ならびに親エビの性比（メス/オス）をTable 2に示した。産仔後30, 150日目の稚エビの死亡率は曝露区でそれぞれ69～86%, 74～90%となった。産仔後30日目から150日にかけての稚エビの死亡個体数は、対照区で4, 曝露区で2～4と少なかった。性比は対照区と0.1μg・l⁻¹の濃度区ではほとんど違いはみられなかった。1.0と10μg・l⁻¹の濃度区では産仔後150日目までの生存個体数がそれぞれ8, 17と非常に少ないため参考値として示した。

3.2 ヌカエビ抱卵期曝露による抱卵メスの出現率への影響

Table 3には親エビのメス個体数、産仔後150～180日目の抱卵メス個体数、ならびに産仔された次世代幼生の産仔後14日目の死亡率を示した。対照区では最初の抱卵メスの出現した産仔後150日目から30日間で10個体のメスが抱卵しメス全体の20%であった。0.1μg・l⁻¹の濃度区では産仔後154日目に最初の抱卵メスが出現し26日間で2個体のメスが抱卵しメス全体の18%であった。1.0と10μg・l⁻¹の各濃度区では産仔後180日目までに抱卵メスの出現はみられなかった。産仔された次世代幼生の14日目までの死亡率は対照区で2.0～4.4%であったが、0.1

Table 1 Effects of 17β-estradiol on the hatched larval mortality of shrimps, resulting from exposure to the chemical exposed female shrimps with fertilized eggs.

Concentration (μg・l ⁻¹)	No. hatched larvae	Larval mortality after 7 d hatched (%)	Larval mortality after 14 d hatched (%)
0	98	0	2.0
0.1	91	35	66
1.0	79	52	80
10	108	73	80

Table 2 Effects of 17β-estradiol on the hatched larval mortality until the adult of shrimps, resulting from exposure to the chemical exposed female shrimps with fertilized eggs.

Concentration (μg・l ⁻¹)	Larval mortality after 30 d hatched (%)	Larval mortality after 150 d hatched (%)	Adult sex ratio (F/M)
0	11	15	1.1
0.1	69	74	0.9
1.0	86	90	(1.0)
10	82	84	(1.8)

Table 3 Effects of 17β-estradiol on the reproduction of shrimps, resulting from exposure to the chemical exposed female shrimps with fertilized eggs.

Concentration (μg・l ⁻¹)	No. female after 150 d hatched	No. female with eggs after 150-180 d hatched	Larval mortality after 14 d hatched of next generation (%)
0	49	10	2.0-4.4
0.1	11	2	-
1.0	4	0	-
10	11	0	-

$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区ではすべての抱卵メスで産仔以前に受精卵したため産仔はみられなかった。

3.3 ヌカエビ幼生期曝露による幼生ならびに稚エビの死亡率への影響

産仔後24時間以内の幼生に 17β -エストラジオールを対照(アセトン) 0.1, 1.0, $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度でそれぞれ7日間曝露して、産仔された幼生の個体数、産仔後7日目、ならびに14日目の幼生の死亡率をTable 4に示した。産仔後7日目の幼生の死亡率は曝露区で2.6~6.6%であった。産仔後14日目の稚エビの死亡率は曝露区で3.9~9.2%と産仔後7日目に比べて高くなったが濃度依存性はみられなかった。

3.1と同様に産仔後30日目、150日目の稚エビの死亡率をTable 5に示した。産仔後30日目、150日目の稚エビの死亡率は曝露区でそれぞれ6.5~24%, 14~50%となった。0.1と $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区では対照区(それぞれ12, 21)に比べて死亡率が高まった。産仔後30日目から150日目にかけての稚エビの死亡個体数は、対照区で9, 曝露区でそれぞれ、20, 12, 5となり低濃度区で多くなった。

3.4 ヌカエビ幼生期曝露による親エビの性比および抱卵メスの出現率への影響

ヌカエビ幼生期曝露による親エビの性比(メス/オス)をTable 5に示した。親エビの性比(メス/オス)は対照区と $0.1\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区で違いはみられなかったが、 $1.0\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ と $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区ではそれぞれ0.5となりメスの個体数がオスの個体数のおよそ半分になった。Fig. 3には各濃度区の親エビのオスとメス、ならびに幼生から親エビまでの死亡個体数を示した。 $1.0\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ と $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区では、対照区と $0.1\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区と比較して死亡個体の多くはメスである可能性が示唆された。

親エビのメス個体数、産仔後150~180日目の抱卵メス個体数をTable 6に示した。対照区では最初の抱卵メスの出現した産仔後151日目から29日間で12個体のメスが抱卵しメス全体の29%であった。 $0.1\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区では産仔後152日目に最初の抱卵メスが出現し28日間で8個体のメスが抱卵し抱卵メスの出現率は38%であった。 $1.0\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区では産仔後148日目に最初の抱卵メスが出現し32日間で10個体のメスが抱卵し抱卵メスの出現率は24%であった。 $10\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区では産仔後160

Table 4 Effects of 17β -estradiol on the larval mortality of shrimps, resulting from exposure to the chemical exposed larval stage.

Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	No. hatched larvae	Larval mortality after 7 d hatched (%)	Larval mortality after 14 d hatched (%)
0	102	0	3.9
0.1	76	6.6	9.2
1.0	155	2.6	3.9
10	103	4.9	7.8

Table 5 Effects of 17β -estradiol on the larval mortality until the adult of shrimps, resulting from exposure to the chemical exposed larval stage.

Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	Larval mortality after 30 d hatched (%)	Larval mortality after 150 d hatched (%)	Adult sex ratio (F/M)
0	12	21	1.1
0.1	24	50	1.2
1.0	6.5	14	0.5
10	18	22	0.5

Table 6 Effects of 17β -estradiol on the reproduction of shrimps, resulting from exposure to the chemical exposed larval stage.

Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	No. female after 150 d hatched	No. female with eggs after 150- 180 d hatched	Larval mortality after 14 d hatched of next generation (%)
0	42	12	0.8-3.4
0.1	21	8	8.1-16
1.0	42	10	64-84
10	28	2	—

Fig. 3 Effects of 17 β -estradiol on the number of adult shrimps, resulting from exposure to the chemical exposed larval stage.

日目に最初の抱卵メスが出現し20日間で2個体のメスが抱卵し抱卵メスの出現率は7%であった。しかしながら、産仔以前に放卵したメスが対照区で2, 0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ で3, 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ で8, 10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ で2個体みられた。そのため産仔したメスの割合は対照区で83, 0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ で63, 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ で20, 10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ で0%であった。

3.5 ヌカエビ幼生期曝露による次世代幼生の死亡率への影響

産仔された次世代幼生の14日目までの死亡率は、Table 6に示すように対照, 0.1, 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の各濃度区で、それぞれ0.8~3.4, 8.1~16, 64~84%と濃度とともに高まり濃度依存性がみられた。なお、10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区では上記に示すとおり2個体の抱卵メスが出現したものの産仔には至らず幼生はみられなかった。

4. 考 察

河川に生息する淡水産の無脊椎動物のうちで甲殻類のヌカエビは、殺虫剤等の化学物質の毒性に対し感受性が高く、止水条件での試験が容易であり河川水の毒性評価のための試験に用いられてきた¹⁵⁻¹⁷⁾。本研究では継代飼育されているヌカエビの抱卵メスに17 β -エストラジオールを曝露、すなわち卵発生期への曝露影響、ならびに、産仔直後の幼生に薬剤を曝露したエビでの抱卵メスの出現とその産仔した次世代幼生への影響を調べた。

まず、抱卵メスに17 β -エストラジオールを0.1~10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度でそれぞれ卵発生期間の14日間曝露すると産仔後7日目の幼生、ならびに産仔後14日目の稚エビの死亡率が対照区に比べて極めて高くなった (Table 1)。幼生期は毎日1回の脱皮、初期の稚エビは2~3日に1回の脱皮がみられるが、曝露区では餌の摂食量が減少し、体色が白濁 (衰弱) して脱皮できずに死亡しており、卵発生期への薬剤曝露が、その後の幼生、ならびに初期の稚エビの消化器系、免疫系、あるいは脱皮に関わる内分泌系などに影響を及ぼし、幼生~稚エビの死亡率が高まったのではないかと推定されるが、死亡要因は特定できない。1.0と10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の各濃度区では親エビの生存個体数が8, 17とそれぞれ産仔された幼生の10, 16%にすぎず、産仔後180日目までに抱卵メスの出現もみられなかった (Table 2)。

次に産仔後24時間以内のヌカエビ幼生に17 β -エスト

ラジオールを0.1~10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度で幼生期間の7日間曝露すると産仔後7日目の幼生、ならびに産仔後14日目の幼生~稚エビの死亡率が対照区に比べてやや高くなったが (Table 4)、産仔後150日目までの稚エビ期間には薬剤曝露区で死亡率がさらに高まった。稚エビ期は1~2週間に1回の脱皮がみられたが、その脱皮時に曝露区では、白濁した個体が5~10頭程度まとまって死亡することが確認された。このため幼生期への薬剤曝露が、卵発生期への曝露と同様にその後の稚エビの消化器系、免疫系、あるいは脱皮に関わる内分泌系などに影響を及ぼしたかどうかは今後の検討が必要である。

親エビの性比 (メス/オス) は、1.0と10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の各濃度区でそれぞれ0.5となり Fig. 3 から稚エビ期間の死亡個体の多くはメスである可能性が示唆され、メスに対する影響が大きいのではないかと考えられた。また、ヌカエビの性比 (対照区でおよそ1.0) は、ミジンコ類のように偏りがなく、化学物質の性比に及ぼす繁殖影響を調べる試験生物としては有用であると考えられた。産仔後150~180日目の抱卵メス個体は対照区と同様に0.1と1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区でもそれぞれメス全体の36と24%みられたが、産仔以前に放卵したメスがみられ、抱卵メスに対する産仔したメスの割合は対照区で83%, 0.1, 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区ではそれぞれ63, 20%に低下した。これは薬剤曝露により親エビとなったメスに生殖異常が生じたのではないかと推定されるが、さらに詳しい検討が必要であると考えられた。一方、10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区では抱卵メス個体はメス全体の7%と少なく、成長の遅れがその要因の一つと考えられた。それを明らかにするには、水槽当たりの個体数密度が各個体の成長に影響を及ぼすので、密度調整をおこなって試験する必要があると考えられた。

5. ま と め

これまで淡水産甲殻類に対する化学物質の生存や繁殖に及ぼす影響については、微小なミジンコ類を用いて調べられてきたが、本研究では大型の甲殻類であるヌカエビを用いて、17 β -エストラジオールのヌカエビ抱卵 (卵発生) 期曝露による幼生の死亡率と抱卵メスの出現率への影響、ならびに幼生期曝露による幼生・稚エビの死亡率、親エビの性比・抱卵メスの出現率と次世代幼生の死亡率への影響を検討した。

その結果、17 β -エストラジオールを0.1, 1.0, 10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度で抱卵期に曝露すると、産仔後14日目の稚エビの死亡率は66~80%と極めて高く、産仔後180日目までに抱卵した親エビの産仔もみられなかった。同様に幼生期に曝露すると親エビの性比 (メス/オス) は対照区と0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区でおよそ1.0に比べて、1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ と10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の濃度区でそれぞれ0.5となりメスの死亡である可能性が示唆された。産仔後180日目までに抱卵したメスのうちで1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下の濃度区で産仔がみられたが、産仔された次世代幼生の14日目までの死亡率は対照区, 0.1, 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ の各濃度区でそれぞれ0.8~3.4, 8.1~16, 64~84%であった。以上の結果からヌカエビを用いることで、淡水産大型甲殻類の卵発生期と幼生期曝露による親エビの性比・抱卵など繁殖に対する17 β -エストラジオールの影響が明らかとなり、内分泌かく乱化学物質等

の化学物質の繁殖影響試験生物として有用であることが示された。

(原稿受付 2003年5月30日)

(原稿受理 2003年8月4日)

参考文献

- 1) Colborn, T., Dumanoski, D. and Myers, J.P. (1996) Our Stolen Future, 306 pp., The Spieler Agency (New York) (長尾力訳 (1997) 奪われし未来, 翔泳社 (東京)).
- 2) 井口泰泉 (1998) 環境ホルモンの野生生物に対する影響, 環境毒性学会誌, **1**, 1-13.
- 3) 環境庁環境保健部環境安全課 (1998) 化学物質と環境, 568pp.
- 4) 環境庁水質保全局水質管理課 (1998) 水環境中の内分泌攪乱化学物質 (いわゆる環境ホルモン) 実態概況調査 (夏季) 結果速報, 53pp.
- 5) Sumpter, J.P. and Jobling, S. (1995) Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment, *Environ. Health Perspect.*, **103**, Suppl 7, 173-178.
- 6) Gray, M.A. and Metcalf, C.D. (1997) Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to *p*-nonylphenol, *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 1082-1086.
- 7) Jobling, S. and Sumpter, J.P. (1993) Detergent components in sewage effluent are weakly estrogenic to fish: an *in vitro* study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes, *Aquatic Toxicol.*, **27**, 361-372.
- 8) Jobling, S., Shehan, D., Osborne, J.A., Mathiessen, P. and Sumpter, J.P. (1996) Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals, *Environ. Contam. Chem.*, **15**, 194-202.
- 9) Defur, P.L., Crane, M., Ingersoll, C. and Tattersfield, L. (1999) Endocrine disruption in invertebrates: endocrinology, testing, and assessment, 303pp., SETAC Press (Pensacola, U.S.A.).
- 10) Baldwin, W.S., Bailey, R., Long, K.E. and Klaine, S.R. (2001) Incomplete ecdysis an indicator of ecdysteroid exposure in *Daphnia magna*, *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**, 1564-1569.
- 11) Watts, M.M., Pascoe, D. and Carroll, K. (2001) Chronic exposure to 17 α -ethinylestradiol and bisphenol A-effects on development and reproduction in the freshwater invertebrate *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae), *Aquat. Toxicol.*, **55**, 113-124.
- 12) 多田満, 畠山成久, 小神野豊 (1999) ビスフェノール A と *p*-ニルフェノールのチカイエカの繁殖に対する影響, 環境毒性学会誌, **2**, 53-63.
- 13) 掛川洋次, 渡邊泉, 久野勝治, 多田満 (2002) 内分泌かく乱化学物質の生態影響評価へのチカイエカの利用, 箱根, 第11回環境化学討論会講演要旨集, pp.74.
- 14) 畠山成久, 小神野豊 (1998) トンボの繁殖に及ぼすビスフェノール A の影響, 日本内分泌攪乱化学物質学会第1回研究発表会要旨集, pp.49.
- 15) Hatakeyama, S. and Sugaya, Y. (1989) A freshwater shrimp (*Paratya compressa improvisa*) as a sensitive test organism to pesticides. *Environ. Pollut.*, **59**, 325-336.
- 16) Hatakeyama, S. and Shiraishi, H. (1998) Biomonitoring with shrimp to detect seasonal change in river water toxicity, *Environ. Toxicol. Chem.*, **17**, 687-694.
- 17) Hatakeyama, S. and Yokoyama, N. (1998) Correlation between overall pesticide effects monitored by shrimp mortality test and change in macrobenthic fauna in a river, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, **36**, 148-161.