ミジンコ—ヒドラ食物連鎖系における 重金属の影響解析

Effect of Heavy Metals on the Food-Chain system of Cladocera
(*Moina macrocopa*) and Hydra (*Pelmatohydra robusta*)

畠 山 成 久* 安 野 正 之* 宮 下 衛*
Shigehisa HATAKEYAMA Masayuki YASUNO Mamoru MIYASHITA

Abstract

Effect of heavy metals on the reproduction of hydra, *Pelmatohydra robusta* was investigated by feeding *Moina macrocopa* which had accumulated heavy metals.

Cadmium and mercury had higher toxic effect on hydra when these metals were taken through food, whereas when hydra were exposed to dissolved metals in the culture solution for hydra, the toxicity was lower.

While, Copper showed higher toxicity to hydra in the form of solution compared with the accumulation form in zooplankton as food.

1. 緒 言

生物は食物連鎖を通して環境汚染物質を体内に濃縮し、その影響を受けることが広く認められている。したがってある水環境がそこに生息する水生生物に適しているかどうかを評価するためには溶存している汚染物質の直接の影響ばかりでなく食物連鎖によって生物濃縮する物質の影響をも種々の生物間で調べる必要があると考えられる。

食物連鎖による有害物質の生物濃縮に関しては、野外生態系における調査や種々のモデル実験により数多く研究されているが¹⁾、捕食者に対するその生物影響を調べた研究はきわめて少ない。これは、水生生物は水中の有害物質と被食者に蓄積されたそれとの両方から影響を受けるためと、捕食者—被食者関係にある生物を共存させて長期間安定に維持する事が困難なことによると考えられる。

したがって食物連鎖による有害物質の生物影響を調べるため、あらかじめ被食者たる生物に有害物質を蓄積させておき、その後これを捕食者に摂食させその生物影響を調べる方法が考えられた。すなわち、筆者らはカドミウムを蓄積させたクロレラをタマミジンコに給餌してその産仔などに及ぼす影響を調べた²⁾。今回の報告は、ミ

ジンコの捕食者として淡水ヒドラを実験系に加えたものである。ヒドラは給餌されたミジンコを短時間にすべて捕食することから有害物質の影響を餌に蓄積した場合と、水中に添加した場合で独立に作用して調べやすく、前述したような研究に適当な材料と考えられた。

淡水ヒドラについては以前から再生や後期形態形成など種々の研究がなされているが³⁾、環境汚染物質の影響を調べるために用いた例は比較的少ない。最近、淡水ヒドラを用い、その増殖に及ぼす銅の阻害効果⁴⁾や農薬の一種である Mirex の亜急性毒性を調べた研究⁵⁾が報告されている。一方、鉛は淡水ヒドラの出芽を⁶⁾、亜鉛ではヒドラの摂食を活性化すること⁷⁾などが報告されている。また、海産の腔腸動物の一種である *Campanularia* の増殖に及ぼす水銀、銅、カドミウムの影響が調べられている⁸⁾⁹⁾。

これらの実験は比較的短期間のものであり、また有害物質はいずれの場合も溶液に添加された場合に限られて

*国立公害研究所・生物環境部、〒300-21 茨城県筑波郡谷田部町館野 Division of Environmental Biology, National Institute for Environmental Studies (Tateno Yatabecho, Tsukuba, Ibaragi-Pref., 300-21)

いる。

今回の実験は重金属の食物連鎖による影響を検討するため、ミジンコにカドミウム、水銀、銅をそれぞれ蓄積させ、このようなミジンコをヒドラに摂食させその増殖等に及ぼす影響を調べたものである。

2. 材料および方法

2.1 実験材料

タマミジンコ (*Moina macrocopa*) は野外から採集後1年以上クロレラ (*Chlorella sp.*) を餌として継代飼育したものを用いた。クロレラは無機培養液 (M-1/N)¹⁰⁾ 中に数パーセントの炭酸ガスを通気して培養したものを人工軟水¹¹⁾ で3回洗浄して餌に用いた。ミジンコの飼育水は毎日交換し、クロレラを約 1.5×10^6 cells/ml の密度で給餌した。ミジンコの飼育水には水道水を自然光下の温室内で通気し、脱塩素して用いた。飼育時の水温は $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、pH 約 8.2 である。

エヒドラ (*Pelmatohydra robusta*) は東京都立・老人研究所の野田幸一氏から分与されたものである。通常の飼育には生後24時間以内のタマミジンコを餌とした。ヒドラの培養液には Muscatine (1961) の “M” solution¹²⁾ を基本としているが NaHCO_3 の代りに NaCl を用いた培養液を使用した¹³⁾。その組成は下記のとおりである。

$\text{NaCl } 10^{-3}\text{M}$, $\text{CaCl}_2 \ 10^{-3}\text{M}$, $\text{KCl } 10^{-4}\text{M}$, $\text{Tris (hydroxy methyl) amino methane } 10^{-3}\text{M}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O } 10^{-4}\text{M}$ (pH 7.6)。ヒドラの飼育温度は $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光は蛍光灯により12時間の明期である。

2.2 タマミジンコの重金属蓄積

ミジンコの飼育水 1 l に重金属を添加し、生後24時間以内のタマミジンコ120個体を入れ、クロレラを約 1.5×10^6 cells/ml の密度で給餌した。翌日、重金属とクロレラを同様に調整したビーカーにミジンコを移し計2日間重金属を蓄積させた。

実験に用いた濃度は金属としてカドミウム ($\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) が 0.5 ppb, 1.3 ppb, 2.5 ppb, 5 ppb, 10 ppb, 水銀 (HgCl_2) が 0.25 ppb, 0.5 ppb, 1 ppb, 2 ppb, 銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) が 5 ppb, 10 ppb, 20 ppb であった。このようにしてミジンコに蓄積した重金属量をカドミウムと銅の場合は以下のように測定した。120個体のタマミジンコをミジンコの飼育水で数回すすいだのも秤量ビンに入れ 100°C で乾燥し、その後硝酸と過塩素酸で分解し蒸留水で2倍に稀釈した。この溶液を原子吸光装置 (島津640-12型) で測定した。

水銀は石英管燃焼一金アマルガム法による水銀分析装

置 (杉山元医理器 MV-250型) によって測定した。この場合ミジンコの体重は分析試料の半分である60個体を乾燥して求めた。

2.3 ヒドラの芽体産出に及ぼす餌量 (ミジンコ) の影響

重金属をミジンコに蓄積させるとある濃度では体重が減少した。ヒドラの出芽は餌量に関連しているので^{14) 15)} 今回の実験条件からミジンコの量を減らした場合、芽体の産出にどの程度影響するかを調べた。

ヒドラの培養液30mlをビーカーに注ぎ、親から遊離後24時間以内のヒドラ1個体を入れた。その後タマミジンコを毎日、4, 6, 8, 10, 12, 14個体ずつ給餌して30日間芽体の産出数を調べた。実験は6個体の繰返しで行った。

タマミジンコは生後24時間以内のもの、 350 ± 10 個を3 l の飼育水中で2日間飼育した。クロレラの密度等飼育条件は重金属を蓄積させた場合と同様である。

実験初期ではすべての餌量区でミジンコを食べ残したのでその数を算え、実際ヒドラが摂取したミジンコの数も調べた。

2.4 ミジンコに濃縮した重金属のヒドラ芽体産出に及ぼす影響

重金属を濃縮したタマミジンコをヒドラの培養液で3回すすぎ、体表の重金属を除去してヒドラに給餌し、その増殖に及ぼす影響を30日間調べた。ヒドラ培養液25mlをビーカーに分注し、その中に親から遊離後24時間以内のヒドラ2個体を入れ、毎日ミジンコを24個体給餌した。3日ごとに新たな培養液を分注したビーカーにヒドラを移した。

観察は毎日行い、遊離している芽体の数を記録して除去した。温度は $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光は蛍光灯で約10時間の明期である。

2.5 ヒドラ培養液に添加された重金属の影響

ヒドラ培養液25mlにカドミウム、銅を添加し、親から遊離後24時間以内のヒドラ1個体を入れ、クロレラで2日間飼育したタマミジンコを12個体給餌して芽体産出に及ぼす影響を30日間調べた。毎日、ミジンコを給餌して約5時間後に新たに重金属を調整したビーカーにヒドラを移した。実験に用いた濃度はカドミウム ($\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$)、銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) とともに、金属として 2 ppb, 5 ppb, 10 ppb, 20 ppb, 40 ppb で、1濃度当り6個体の繰返しで実験を行った。

水銀の場合はヒドラの培養液50mlに親から遊離後24時

間以内のヒドラ3個体を入れて、生後24時間以内のタマミジンコを約100個体給餌してカドミウム、銅の場合と同様に実験を行った。実験に用いた濃度は水銀として、0.1 ppb, 0.3 ppb, 1.0 ppb, 3 ppb である。

生後24時間以内のタマミジンコの乾重量は $2.72\mu\text{g}$ 、これを2日間飼育したミジンコのそれは $13.83\mu\text{g}$ なので、この実験における水銀の場合のヒドラ1個体当りの餌量は重量にしてカドミウム、銅の場合の約50%に相当する。

3. 結 果

3.1 ミジンコの重金属蓄積量

重金属を添加した水中で2日間飼育したタマミジンコの金属蓄積量を3~5回測定しTable 1に示した。カドミウムの場合、0.5 ppb から10 ppb まで濃度に比例してほぼ直線的にミジンコのカドミウム蓄積量($\mu\text{g/g}$ 乾重)が増加した。カドミウム蓄積量(Y , $\mu\text{g/g}$)とカドミウム

濃度(X , ppb)間で $Y=10.1\times+8.3$ なる式が得られた。20 ppb ではカドミウムの蓄積量が濃度に比して低下した。この濃度ではミジンコの生育は著しく阻害された。5 ppb 以上でカドミウムを蓄積したタマミジンコをヒドラに給餌した場合、芽体を遊離する以前にヒドラが崩壊したので、芽体産出の影響は2.5 ppb 以下の3濃度で調べた。

2日間飼育したタマミジンコの湿重量に占める乾重量の割合は $8.2\pm0.5\%$ ($n=5$)なので、カドミウムの濃縮係数(湿重量で)は0.5 ppb, 1.3 ppb, 2.5 ppb, 5 ppb, 10 ppb でそれぞれ3260, 1770, 1270, 1030, 970となった。

水銀の場合、2 ppb で2日間タマミジンコを飼育すると50%前後死亡したので、0.25 ppb, 0.5 ppb, 1 ppb の3濃度で実験を行った。水銀でもこの濃度に比例してミジンコへの蓄積量が増加した。濃縮係数は0.25 ppb, 0.5 ppb, 1 ppb でそれぞれ3350, 3150, 2450となった。

銅の場合も5 ppb, 10 ppb, 20 ppb の間で濃度に比例してミジンコへの蓄積量が増加した。蓄積量の回帰式は

Table 1 Accumulation level of heavy metals in *M. macrocopa* reared for 2 days in the water containing heavy metals

ppb	Cd ($\mu\text{g/g}$ dry wt.)	Hg ($\mu\text{g/g}$ dry wt.)	Cu ($\mu\text{g/g}$ dry wt.)
control	N.D. ($n=3$)	0.59 ($n=2$)	32.22 $\pm$ 12.22 ($n=3$)
0.25		9.97 $\pm$ 0.78 ($n=3$)	
0.5	18.24 $\pm$ 2.85 ($n=5$)	18.26 $\pm$ 2.56 ($n=3$)	
1		28.03 $\pm$ 1.46 ($n=3$)	
1.3	25.69 $\pm$ 4.70 ($n=5$)		
2.5	34.54 $\pm$ 2.94 ($n=5$)		
5	57.41 $\pm$ 10.21 ($n=3$)		88.35 $\pm$ 14.50 ($n=3$)
10	108.80 $\pm$ 0.27 ($n=3$)		145.10 $\pm$ 19.66 ($n=4$)
20	122.42 ($n=2$)		235.47 $\pm$ 41.03 ($n=4$)

N.D. Not detected. $\pm$, S.D.

Table 2 Body weight of *M. macrocopa* reared for 2 days in the water containing heavy metals. (μg , dry weight per *M. macrocopa*)

ppb	Cd	Hg	Cu
control	13.20 $\pm$ 0.36 ($n=6$)	14.60 $\pm$ 2.35 ($n=5$)	13.20 $\pm$ 0.63 ($n=6$)
0.25		14.24 $\pm$ 1.94 ($n=5$)	
0.5	13.11 $\pm$ 2.99 ($n=5$)	13.24 $\pm$ 1.38 ($n=5$)	
1		8.84 $\pm$ 1.74 ($n=5$)	
1.3	11.97 $\pm$ 1.88 ($n=5$)		
2.5	11.06 $\pm$ 1.13 ($n=6$)		
5	9.66 $\pm$ 1.73 ($n=3$)		12.81 $\pm$ 1.11 ($n=5$)
10	9.96 ($n=2$)		13.56 $\pm$ 0.61 ($n=5$)
20			12.81 $\pm$ 1.63 ($n=6$)

$\pm$, 95% confidence limit.

$Y=10.1X+36.6$ となり直線の傾きはカドミウムの場合と同じ値であった。濃縮係数は5 ppb, 10 ppb, 20 ppb でそれぞれ1000, 1010, 910となり, 同じ濃度範囲ではカドミウムの値とほぼ同じである。

3.2 重金属によるミジンコの生育阻害

2日間重金属を蓄積したタマミジンコの乾重量を測定し, その平均値をTable 2に示した。カドミウムと銅は同じ時期に測定し, 対照を共通とした。水銀では対照の値がカドミウムの場合より約10%高い値が得られた。この原因は主として餌として用いたクロレラの濃度にやや差があったためと見なされる。

カドミウムでは1.3 ppb で対照と差が認められないが ($t=2.04$, $p>0.05$), 2.5 ppb では対照と有意の差が認められ ($t=4.20$, $p<0.01$), 平均値で対照の83.8%に体重が減少した。

水銀では0.25 ppb, 0.5 ppb で対照と有意差は認められないが, 1 ppb では有意差が認められ ($t=5.47$, $p<0.001$), 体重が対照の60.6%に減少した。

銅では20 ppb でも対照と有意差は認められなかった。Biesinger¹⁶⁾ らによるとミジンコに対する銅の急性毒性は餌を添加しない場合はカドミウムより高く, 48時間

Fig. 1 Number of *M. macrocepa* ingested by a newly detached hydra fed on different feeding regimes of 4, 6, 8, 10, 12 and 14 *M. macrocepa* per day.

Fig. 2 Cumulative no. of buds detached from a hydra fed on different feeding regimes of 4, 6, 8, 10, 12 and 14 *M. macrocepa* per day.

LC_{50} 値が9.8 ppb であるが, 餌としてクラミドモナスを加えると LC_{50} 値が60 ppb になりカドミウムより毒性が低くなる。今回の実験で, 20 ppb でもミジンコの生育にほとんど影響がなかったことは, クロレラを 1.5×10^6 cells/mlの密度で給餌したためであると見なされる。

3.3 餌(ミジンコ)の量とヒドラの芽体産出

カドミウムや水銀を蓄積したタマミジンコは体重が減少している場合, 餌の量の減少と見なされるので, 餌量とヒドラ芽体産出の関連をミジンコの給餌数を変えて調べた。

親から遊離後24時間以内のヒドラは1日当り8~14個体のミジンコを給餌した場合, それを食べつくすようになるまで8日から12日を要した。(Fig. 1)。5日目以前では10個体の餌区ヒドラの方が12, 14個体の場合より実際のミジンコ摂取数が多かった。それぞれの餌区でいったんヒドラがミジンコを食べつくすようになったのちは

食べ残すことはなかった。

Fig. 2 はそれぞれの餌区で遊離された芽体積算値を実験後10日から30日目まで5日ごとに示したものである。実験15日目までは10個体の餌区のヒドラが最も多く芽体を遊離した。20日以降ではほぼ餌量に比例して芽体積算値が増加している。

Ott¹⁴⁾ らによるアルテミアを餌とした実験で、餌量の変化がヒドラの芽体産出に餌量に比例した影響をもたらすのは、餌量を変化させてから1週間以上経過してからである。

われわれの実験でも10, 12, 14個体の餌区で見られるように、実際のミジンコ摂取数(積算値)があまり差のない8日頃から(**Fig. 1**)さらに10日位経過した20日頃から餌の量に比例して芽体の積算値が増加している(**Fig. 2**)。

3.4 ミジンコに生物濃縮した重金属のヒドラ増殖に及ぼす影響

重金属を2日間蓄積したミジンコ(**Table 1**)を毎日給餌した10個体のヒドラが遊離した芽体の積算値を1個体当りの数として($\times \frac{1}{10}$) **Fig. 3, 4, 5**に示した。

3.4.1 カドミウム

対照では実験開始後4日から最初の芽体遊離が見られたが0.5 ppb, 1.3 ppb のカドミウム水中で飼育したミジンコを餌としたヒドラでは2日遅れて6日目からはじまる。また、両者で11日頃までは芽体産出速度が対照より

低い(**Fig. 3**)。しかし0.5 ppb の場合は12日頃から、1.3 ppb の場合は18日頃から芽体産出速度は対照とほとんど差がなくなった。18日から27日までの10日間に遊離した芽体数は対照と1.3 ppb の間でも有意差は認められない。

カドミウムや水銀を蓄積したミジンコは体重が減少したので、体重の減少をミジンコの数の減少に換算し、体重の減少によって期待される30日間の芽体積算値を**Fig. 2**から求め、実際に観察された芽体積算値と比較した(**Table 3**)。これによると0.5 ppb, 1.3 ppb, 2.5 ppb の場合体重の減少によって期待される値のそれぞれ71%, 51%, 3%に芽体積算値が減少した(**Table 3-E**)。さらに餌量を変えた実験では、餌量による出芽数の差は2週間目頃までは見られなかったが、カドミウムを蓄積したミジンコの影響はむしろ実験初期に強く現われている(**Fig. 3**)。

これからヒドラ芽体産出の低下は主としてミジンコに蓄積したカドミウムの阻害作用によると考えられる。2.5 ppb でカドミウムを蓄積したミジンコを摂取したヒドラは5日後でも出芽がなく、6日目頃から胴体部が縮小し、胴体部と触手の基部が分離して崩壊するものが増加し、15日までに半数以上が死亡した。18日までに3個体を残しすべて崩壊したが残ったものは20日頃から出芽が始まり、1個体のヒドラは27日と29日に1個体の芽体を遊離した(**Fig. 3**)。

5 ppb でカドミウムを蓄積したミジンコを摂取したヒドラは出芽が見られたのは10個体の内1個体だけで、5

Table 3 The comparison between the expected (C) and observed (D) numbers of detached buds for 30 days experiment. The expected number was computed from the relationship between food amount and no. of detached buds (**Fig. 2**)

Heavy metal (ppb)	A Body weight of M. macrocopa as food.	B No. of M. macrocopa adjusted with body weight.	C Expected no. of detached buds.	D Observed no. of detached buds.	E (D)/(C)×100
Cd control	13.20(100)	12*	22.8(100)	22.3(100)	
0.5	13.11(99.3)	11.9	22.6(99.1)	15.6(70.0)	70.6
1.3	11.97(90.7)	10.9	20.4(89.5)	10.1(45.3)	50.6
2.5	11.06(83.8)	10.1	18.5(81.8)	0.5(2.2)	2.7
Hg control	14.60(100)	12*	21.8(100)	20.8(100)	
0.25	14.24(97.5)	11.7	21.1(96.8)	17.0(81.7)	84.4
0.5	13.24(90.7)	10.9	19.3(88.5)	15.5(74.5)	84.2
1.0	8.84(60.6)	7.3	13.6(62.4)	6.6(31.7)	50.8
Cu control	13.20(100)	12*	22.8(100)	19.9(100)	
5	12.81(97.0)	11.6	21.8(95.6)	18.6(94.0)	98.3
10	13.56(102.7)	12.3	22.9(100.4)	17.4(87.4)	87.1
20	12.81(97.1)	11.6	21.8(95.6)	15.0(75.4)	78.9

* No. of M. macrocopa supplied to a hydra per day.

Fig. 3 Cumulative number of buds detached from a hydra fed on *M. macrocopa*, reared for 2 days in the water containing 0.5, 1.3 and 2.5 ppb Cadmium. Accumulation level of Cd is shown in parenthesis. (* $\mu\text{g/g}$ dry wt.)

日目までにヒドラの胴体部が崩壊し、触手の基部がヒトデ状に残存したが8日目までにこれらの構造もすべて崩壊した。

10 ppb の場合出芽はまったく見られず3日目から胴体部が崩壊し、触手の基部が残存したが6日目までにすべての構造が崩壊した。

このように ppb レベルのカドミウムでもミジンコに生物濃縮すると、それを捕食したヒドラに致死的效果を持つことが示された。

3.4.2 水 銀

水銀の場合も実験開始後の10日頃まで水銀を蓄積したミジンコを捕食したヒドラの芽体産出が対照よりも低くなっている(**Fig. 4**)。その後10日から15日にかけて0.25 ppb, 0.5 ppb の水銀を含む水で飼育したミジンコを捕食したヒドラでは対照と芽体産出速度が一時期差がなくなっているが、15日頃から再び対照と差が見られている。15日目までの芽体積算値に対照と有意差が見られたのは1 ppb の場合だけである ($t=5.7$, $p<0.001$)。

Fig. 4 Cumulative no. of buds detached from a hydra fed on *M. macrocopa* reared for 2 days in the water containing 0.25, 0.5 and 1.0 ppb Hg. Accumulation level of Hg is shown in parenthesis (* $\mu\text{g/g}$ dry wt.)

28日目までの芽体積算値では0.25 ppb の場合対照と有意差は認められないが ($t=2.2$, $p>0.05$)、対照と0.5 ppb の間では有意差があり ($t=2.6$, $p<0.02$) 遊離芽体数は対照の74.5%に減少した。

対照と1 ppb の場合では明らかに差があり、28日間の遊離芽体数は対照の31.7%に減少した。水銀の場合もミジンコの体重減少によって期待される以上に実際の芽体積算値は減少している(**Table 3-E**)。たとえば(**Table 3**)によると1 ppb ではミジンコの体重減少とミジンコに濃縮した水銀が同等程度関与して28日間の芽体積算値を対照の31.7%に減少させたことになる。

2 ppb で水銀を蓄積したミジンコを捕食したヒドラは1 ppb の場合より1日遅れて出芽が見られたが、3日目にはヒドラ胴体部が縮小したり崩壊したものが見られた。また2 ppb では前述したように2日間で50%前後のミジンコが死亡した。

3.4.3 銅

銅の場合、5 ppb, 10 ppb, 20 ppb で実験を行った。21

Fig. 5 Cumulative no. of buds detached from a hydra fed on *M. macrocopa* reared for 2 days in the water containing 5, 10 and 20 ppb Cu. Accumulation level of Cu is shown in parenthesis (* $\mu\text{g/g}$ dry wt.)

日から30日にかけては芽体の産出数にどの濃度間でも有意差は認められなかった(Fig. 5)。

20日までの芽体積算値で比較すると対照と10 ppb ($t=3.64$, $p<0.01$), 対照と20 ppb ($t=5.52$, $p<0.001$) の間に有意差があり、遊離した芽体数は対照の70.2%, 54.8%に減少した。また5 ppbと20 ppbの間でも有意差が認められた ($t=2.42$, $p<0.05$)。

銅を蓄積したミジンコに体重の差はほとんど認められなかったことから(Table 2), これらの芽体産出の低下はほぼミジンコに蓄積した銅の出芽阻害によるものと見なし得る。しかし21日後の10日間における芽体積算値に濃度間で有意差がなかったことから, この阻害作用はなんらかの機構でその後回復したものと考えられる。

3.5 ヒドラ培養液に添加した重金属の影響

重金属をヒドラの培養液に添加し, ヒドラの増殖に及ぼす影響を調べた(Fig. 6, 7, 8)。

3.5.1 カドミウム

Fig. 6 Cumulative number of buds detached from a hydra exposed to 2, 5, 10, 20 and 40 ppb Cd dissolved in the culture solution for hydra.

Fig. 7 Cumulative number of buds detached from a hydra exposed to 0.1, 0.3, 1.0 and 3 ppb Hg dissolved in the culture solution for hydra.

10 ppb以下の濃度で芽体数がわずかながら対照より多い傾向が示された(Fig. 6)。しかし, 対照より最も芽体

数が多い2 ppb の場合でも30日間の芽体積算値に明らかな有意差は認められなかった ($t=2.1$, $p>0.05$)。

20 ppb で20日頃までは芽体産出数に对照と差は見られないが、30日間の芽体積算値では对照と有意差が認められ ($t=2.62$, $p<0.05$)、芽体数は对照の84.9%に減少した。

40 ppb では芽体産出はさらに低下し、20日間の芽体積算値は对照の29.4%に減少した。また、この濃度では10日頃からヒドラの触手が先端から短くなって、15日前後にはほとんど消失し、20日から25日にかけてヒドラ胴体部も崩壊したり、こん跡になって全個体死亡した。

3.5.2 水 銀

对照, 0.1 ppb, 0.3 ppb で15個体のヒドラが25日間に遊離した芽体の積算値はそれぞれ116, 124, 146個体であり、水銀を微量添加した場合の方が对照よりも芽体数が有意に多かった(Fig. 7)。对照と1 ppbの間では有意差は認められなかったが、对照と3 ppbでは25日間の芽体積算値に有意差があり ($t=2.59$, $p<0.05$)、芽体数は对照の77.6%に減少した。

Fig. 8 Cumulative number of buds detached from a hydra exposed to 2, 5, 10, 20 and 40 ppb Cu dissolved in the culture solution for hydra.

Fig. 9 Budding rates of hydra exposed to the dissolved Cd, Hg and Cu in the culture solution for hydra [A] and those when metals were given through food [B]. Budding rate was calculated based on the results from 12th day afterward of the experiment.

10 ppb では水銀暴露1日後からヒドラの触手が先端から消失し、その後胴体部も縮小して3日から10日の間に全個体が崩壊した。この間出芽はまったく見られなかった。

水銀の場合、遊離芽体数がカドミウム、銅の場合の約50%であるが(Fig. 6, 7, 8)、これは前述したように(2-5)餌量がミジンコの体重にしてカドミウム、銅の実験の場合の約50%であったためである。

3.5.3 銅

5 ppb 以下の濃度では30日間の芽体積算値が对照よりもやや多かった(Fig. 8)。10ppb では30日間の芽体積算値は对照よりも少ないが、有意差は認められない。

しかし、実験開始後14日間の芽体積算値では5 ppb でも对照と有意差があり ($t=2.96$, $p<0.02$)、芽体数が对照の62.8%に減少している。10ppb では对照の46.5%とさらに減少した。このように10 ppb 以下では実験の前半に銅による芽体産出の阻害があったが、その後回復して

いることが示された。

20 ppb ではヒドラ 1 個体当たり 0～2 個体の芽体を遊離したが 20 日頃までに 6 個体すべてが縮小して崩壊した。このように 10 ppb から 20 ppb の間にヒドラに対する銅の毒性は急に高くなった。40 ppb では 4 日目から触手が先端から消失し始め、8 日目から胴体部も縮小して、15 日から 20 日頃にかけて全個体が崩壊した。この間芽体は産出されなかった。

4. 考 察

ヒドラの出芽に及ぼす重金属の影響は餌を通して作用させた場合と、ヒドラ培養液に添加して作用させた場合で異なっていることが明らかとなった。

カドミウムと水銀は ppb のレベルでもミジンコに生物濃縮してこれを捕食するヒドラに対しきわめて高い毒性を発現した。これに対しカドミウム、水銀をヒドラ培養液に添加した場合、数倍～数10倍高い濃度で同程度の毒性を示す。一方、銅はヒドラ培養液に添加された場合の方がヒドラに対する毒性がむしろ高かった。

このように重金属の種類により生物濃縮した場合と、水に溶存している場合で生物に対する毒性が種々異なって発現する。Fig. 9 はこの相違を比較するためにまとめたものである。

ヒドラが重金属 (Cd, Hg) を蓄積したミジンコを捕食して致死の影響を受ける場合、最初にヒドラの胴体部 (柱部) が崩壊し、その後ヒドテ状に残存している触手部が崩壊した。これに対し重金属をヒドラ培養液に添加した場合は逆に最初触手が先端から消失し、その後ヒドラ胴体部が崩壊した。このようにヒドラは同じ毒性物質でも餌を通して作用を受けた場合と、水中に溶存した物質から作用を受ける場合で明らかに異なる反応を示す場合があり、有害物質の食物連鎖による生物影響を調べるのに一つの好ましい実験材料であると考えられる。

湖沼などでは世代の混合したミジンコが長期間汚染物質にさらされる場合がある。Marshall¹⁷⁾ らによるとミシガン湖の水にカドミウムを 2 ppb, 4 ppb 添加してミシンの集団を 22 週間飼育した場合のカドミウム蓄積量は 28.3, 42.8 $\mu\text{g/g}$ (dry wt.) であった。後者の蓄積量はわれわれの実験ではヒドラに対し致死濃度であった。

これからカドミウムや水銀などの重金属は動物プランクトンに生物濃縮し、水中の濃度からでは影響が認め難いような場合でも、その捕食者であるヒドラに著しい影響を及ぼすことが、野外でも起りうることを示している。

カドミウムを 60 $\mu\text{g/g}$ (dry wt.) 蓄積したミジンコを摂

取したヒドラは 1 週間前後で死亡した。一方、カドミウムを 70 $\mu\text{g/g}$ (dry wt.) 程度蓄積したクロレラを捕食したタマミジンコではその生存率にほとんど影響が認められなかった²⁾。このように被食者に同じ程度有害物質が蓄積した場合でも、その捕食者に対する影響は生物種によって著しく異なっている。

ほとんどの実験区で見られたように重金属に暴露されたヒドラは実験後 10 日頃までは出芽速度が対照よりも低い。しかし、致死濃度以下では出芽速度が対照よりも低い。しかし、致死濃度以下では出芽速度の低下はその後、あるいはその後の一時期回復する傾向が観察された (Fig. 2-Fig. 7)。Stebbing⁴⁾ によると淡水ヒドラに銅を、海産の腔腸動物 *Campanularia* に水銀、カドミウム、銅を暴露した場合⁸⁾ でもいったん低下した出芽率が回復する現象が見られている。また、*Campanularia* に上記の金属を暴露した場合、出芽率が対照よりも一時高くなることが報告されている⁸⁾。この著者はこの反応は生物が毒性物質のストレスに対して恒常性を保つため反応した結果に、るものであろうと示唆している。われわれの実験でも低濃度の重金属をヒドラの培養液に添加すると芽体数が対照よりもわずかに増加する傾向が示された。したがって低濃度では重金属はむしろ出芽に対する刺激となるのかもしれない。

実際の食物連鎖系は複雑であり食性もはっきりしていない場合が多いと考えられるが、ミジンコ-ヒドラのモデル実験例で得られたようなデータが種々の生物間で蓄積されれば、野外生物の環境汚染物質の分析結果を被食者-捕食者関係の明らかな生物に適用して食物連鎖による汚染物質の生物影響をある程度推定できるものと考えられる。

5. 摘 要

動物プランクトンに生物濃縮した重金属がその捕食者に及ぼす生物影響を調べる目的でタマミジンコにそれぞれカドミウム、水銀、銅を蓄積させ、これをヒドラに給餌して出芽に及ぼす影響を調べた。

(1) カドミウム : 0.5 ppb, 1.3 ppb で 2 日間カドミウムを蓄積したミジンコを捕食したヒドラの 30 日間の遊離芽体数は対照の 70%, 45% に減少した。2.5 ppb の場合はほとんど致死であり、生残したヒドラの出芽も著しく抑制された。これらの濃度でミジンコ中のカドミウム蓄積量はそれぞれ 18.2, 25.7, 34.5 $\mu\text{g/g}$ (dry wt.) であった。

一方、ヒドラ培養液にカドミウムを 20 ppb 添加した場合、30 日間の芽体積算値は対照の 84.7% に減少し 40 ppb では致死であった。

(2) 水銀：0.25ppb, 0.5 ppb, 1 ppb で水銀を蓄積したミジンコを捕食したヒドラでは28日間の芽体積算値が対照の81.7%, 74.5%, 31.7%に減少した。これらのミジンコの水銀蓄積量はそれぞれ10.0, 18.3, 28.0 $\mu\text{g/g}$ (dry wt.) であった。一方、ヒドラ培養液に3 ppbの水銀を添加した場合、24日間の芽体積算値は対照の71.4%に減少した。

(3) 銅：銅を5 ppb, 10 ppb, 20 ppb 含む水中で2日間飼育したミジンコを捕食したヒドラの30日間の芽体積算値は対照の94.0%, 87.4%, 75.4%に減少した。これらのミジンコの銅蓄積量は88.4, 145.1, 235.5 $\mu\text{g/g}$ (dry wt.) であった。

10 ppbの銅をヒドラ培養液に添加した場合、30日間の芽体数は対照の89.9%に減少し、20 ppbでは致死であった。

(4) カドミウム、水銀はミジンコに生物濃縮し、同じ濃度でヒドラ培養液に添加された場合よりもきわめて高い毒性を示した。また、ミジンコに生物濃縮した場合はカドミウムの方が銅よりも毒性が高いが、ヒドラ培養液に添加した場合は逆に銅の方がヒドラに対する毒性が高かった。

(5) 致死濃度以下の重金属をヒドラに暴露すると、10日前後までは出芽が抑制されるが、その後出芽速度が回復する傾向が示された。

(6) 餌を通してヒドラにカドミウム、水銀を致死濃度で作用させると先に胴体部が崩壊しその後触手が消失した。一方、溶液に重金属を添加するとこの逆の順序でヒドラが崩壊した。

謝 辞

実験材料であるヒドラを提供くださり、またその飼育法をご指導頂いた東京都立・老人研究所の野田幸一博士に深謝いたします。

また本研究の遂行に多大なる協力を頂いた牧静江氏、および古谷君江、大山芳江、坂入節子の諸氏に感謝の意を表します。

(原稿受理：昭和54年3月28日)

一 引 用 文 献

- 1) 山 登 (1978) 生物濃縮環 (環境科学特論) p.1-281

産業図書.

- 2) 畠山, 安野 (1978) 国立公害研究所・研究発表会予稿集, 136-147.
- 3) Barnett, A.L. (1973) *Biology of Hydra*. p.1-451, Academic Press, New York and London.
- 4) Stebbing, A.R.D. and Pomroy, A.J. (1978) A sublethal technique for assessing the effects of contaminants using *Hydra littoralis*. *Water Research*, **12**, 631-635.
- 5) Lue, K.Y. and DeLa Cruz, A.A. (1978) Mirex incorporation in the environment. Toxicity in *Hydra*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **19**(4), 412-416.
- 6) Browne, C.L. and Davis, L.E. (1977) Cellular mechanisms of stimulation of bud production in *Hydra* by low levels of inorganic lead compounds. *Cell Tiss. Res.* **177**, 555-570.
- 7) Lenhoff, H.M. and Zwisler, J.R. (1963) Zinc activation of a coordinated response in *Hydra*. *Science*, **142**, 1666-1668.
- 8) Stebbing, A.R.D. (1976) The effects of low metal levels on a clonal hydroid. *J. mar. biol. Ass. U.K.* **56**, 977-994.
- 9) Moore, M.N. and Stebbing, A.R.D. (1976) The quantitative cytochemical effects of three metal ions on a lysosomal hydrolase of a hydroid. *J. mar. biol. Ass. U.K.* (1976) **56**, 995-1005.
- 10) 田宮 博, 渡辺 篤 (1972) 藻類実験法, p.74, 99 南江堂
- 11) 田端健二 (1972) ヒメダカを供試魚とする TLm 標準試験法の提案, 用水と廃水, **14**(10), 51-56.
- 12) Musatine, L. (1961) The biology of *hydra* and some other coelenterates. Conal Gables, Florida. p.255-258.
- 13) 野田幸一 (1974) ヒドラ遺伝, **28**(10), 35-38.
- 14) Otto, J. and Cambell, R. (1977) Tissue economics of *hydra*: Regulation of cell cycle, animal size and development by controlled feeding rates. *J. Cell Sci.* **28**, 117-132.
- 15) 野田幸一 (1974) ヒドラ遺伝, **28**(10), 35-38.
- 16) Biesinger, K.E. and Christensen, G.M. (1972) Effect of various metals on survival, growth, reproduction and metabolism of *Daphnia magna*. *J. Fish. Res. Board Can.* **29**, 1691-1700.
- 17) Marshall, J.S. (1978) Population dynamics of *Daphnia galeata mendotae* as modified by chronic cadmium stress. *J. Fish. Res. Board Can.* **35**, 461-469.