メダカの卵および仔魚に対するカドミウムの毒性およびその蓄積性

中 川 久 機, 石 尾 真 弥

(1988 年 5 月 30 日受付)

Toxicity of Cadmium and Its Accumulation on the Egg and Larva of Medaka *Oryzias latipes*

Hisaki Nakagawa* and Shinya Ishio*

Toxicity and accumulation of cadmium to the eggs and larvae of medaka *Oryzias latipes* were examined in cadmium concentrations of 0.1–4.0 ppm.

The eggs were not adversely affected by the cadmium concentrations of 0.1–2.0 ppm, but their hatchability significantly decreased at 4.0 ppm. In the larvae exposed to cadmium concentrations higher than 0.2 ppm, rates of survival decreased, and symptoms of cadmium poisoning such as erratic swimming and loss of equilibrium were observed.

The amounts of cadmium accumulated by the eggs reached stable levels for a short period, depending on the cadmium concentrations in test solutions. The accumulation of cadmium by the larvae increased rapidly with exposure time at all concentrations (0.1, 0.4 and 2.0 ppm). The eggs accumulated cadmium as much as 32–280 ng/egg when exposed to cadmium concentrations of 0.1–4.0 ppm. On the other hand, the larvae accumulated cadmium 2.6–5.5 ng/larva in the test solutions with cadmium concentrations of 0.1, 0.4 and 2.0 ppm. The eggs could accumulate cadmium 10–30 times higher than the larvae.

Thus, the reason that the eggs were more resistant to cadmium than the larvae is thought as follows: most of the cadmium accumulated in the eggs remains on the chorion and is scarcely transferred into the embryos, whereas cadmium accumulated in the larvae is immediately transferred into target organs or tissues.

Mckim¹⁾ は過去 10 年間に行われた 4 魚種および 34 種類の有機物質と無機物質についての慢性毒性試験資料を調べ、魚類の生活環の中で、卵・稚仔魚期は鋭敏な感受性を示すことを明らかにした。そして魚類の卵・稚仔魚期を用いる、実験期間が 30~90 日間という簡便な供試物質の慢性毒性評価法を提案した。この簡便法では 2 倍を越えない誤差の範囲で、魚類の全生活環を対象にした慢性毒性試験法²⁾によって求めた供試物質の最大許容濃度を推定できた。この簡便法はわが国に紹介され、³⁾利用されている。⁴⁾しかし供試物質に対して魚類の卵・稚仔魚期が何故鋭敏な感受性を示すか十分に研究されておらず、これらの成長段階に対する供試物質の毒性および蓄積性を調べ、鋭敏な感受性を有する理由を明らかにすることが必要である。

田所・前田⁵⁾も述べているように、わが国で Mckim¹⁾の提案したこの簡便法を用いる場合の供試魚としては、標準的な魚毒試験の供試魚であるメダカが最も適した魚類の一種である。そこでメダカの卵・仔魚期が供試物質

に対していかなる感受性を有するか、供試物質としてカドミウム (以下 Cd と略記) を用いて詳細に検討した。

Cd は水生生物にとって有害な重金属であり、水生生物、特に魚類に及ぼす影響については多くの研究報告があり、成書⁶⁾が見られる。その中で魚類の卵に対する Cd の影響については、毒性および蓄積性の両面から調べられているが、稚仔魚に関しての研究は僅かである。⁶⁻⁸⁾しかも同一魚種で卵および稚仔魚に対する Cd の毒性および蓄積性が調べられたのは、Atlantic salmon⁹⁾とニジマス⁷⁾だけである。またメダカに関しては、卵^{9,10)}および卵・仔魚^{4,11,12)}に対する Cd の影響に関する研究は僅かしかなく、しかも Michibata が卵の 96-hr LC 50 試験から、Cd の毒性と蓄積量との関係⁹⁾および Cd の毒性とその蓄積性に及ぼす水の硬度の影響¹⁰⁾について報告した以外は、卵および仔魚に対する Cd の毒性と水中の Cd 濃度との関係が主に研究されている。

本研究ではメダカの卵および仔魚を用いて、卵および仔魚に対する Cd の毒性およびその蓄積状況を調べた。

* 九州大学農学部水産学科 (Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyushu University 46-04, Hakozaki, Higashi, Fukuoka 812, Japan).

実験方法

供試卵および仔魚 供試卵は九州大学農学部構内で継代繁殖させたメダカの親魚から得た。即ち親魚の腹部に付着している卵塊を集め、ろ紙上に置き、軽く指先で押え転がすと、卵塊は個々の卵に分かれるので、これらの卵を集めて、供試卵とした。用いた卵の発生段階は全て胞胚期であった。そして毒性試験に用いる約 500 個の供試卵から無作為に 10 個の卵を取り、卵径および湿重量を測定した。その平均の卵径は 1.27 ± 0.04 mm, 平均の湿重量は 1.55 ± 0.14 mg であった。また供試仔魚は卵を 25°C の水中に保温し、孵化させて得た。用いた仔魚は孵化後 24 時間以内のものであった。

希釈水 九州大学農学部構内の井水を EDTA 硬度として 130 ppm (CaCO_3) になるように脱イオン水で希釈し、1 日間通気して希釈水とした。

供試水の調製 和光純薬の試薬特級の $\text{CdCl}_2 \cdot 5/2\text{H}_2\text{O}$ を脱イオン水に溶解し、Cd として 1 mg/ml の Cd 原液を調製した。この Cd 原液を上述の希釈水で試験濃度まで希釈した後に、0.1 N NaOH および HCl で pH 8.0 に調節し、供試水とした。

毒性試験法 卵に対する試験は 50 ml 容のガラスのビーカーに、種々な濃度の Cd 供試水 50 ml を取り、卵 30 個を入れ、 25°C に保温して行った。そして卵の生残率、孵化率、平均孵化日数などに及ぼす Cd の影響を調べた。試験期間中に孵化した仔魚は、卵とは別の容器に移し、孵化日毎に分け、孵化から 5 日間の生残率、異常症状の出現などを調べた。仔魚に対する試験は卵の場合と同じ 50 ml 容のガラスのビーカーに、50 ml の種々な濃度の Cd 供試水を取り、仔魚 20 尾を入れて行った。そして 5 日間における仔魚の生残率、異常症状の出現などを調べた。卵および仔魚とも斃死個体は発見しだい取り除いた。供試水は毎日換えた。使用した供試水は 50 ml に対して 15 容量%の硝酸 0.5 ml を加え、Cd 分析のための試料とした。なお、卵に対する試験では、Cd 試験区および対照区ともに、試験開始後 8 日目から孵化が始まって、3~4 日間で終了する場合が多かった。しかし若干の試験区では 1~2 個の卵は孵化開始後 1 週間以上たっても孵化しないこともあった。その場合、このような卵を除いて、卵の平均孵化日数を求めた。また平均孵化日数を求める時、午後 5 時から翌朝 9 時の間に孵化した場合、0.5 日を前日に加え、孵化した個体の孵化日数とした。

平均孵化日数は次式によって求めた。

$$\text{平均孵化日数} = T_1^{n_1/N} \times T_2^{n_2/N} \times \dots \times T_n^{n_n/N}$$

但し、 T_1 : 孵化所要日数

n_1 : 孵化個体数

N: 全個体

蓄積性試験法 卵の試験は、1 l 容のガラスのビーカーに、種々な濃度の Cd 供試水 1 l を取り、卵 300 個を入れて行った。仔魚を用いる試験は、直径 23 cm, 深さ 12 cm のガラス水槽に 3 l の供試水を入れ、仔魚 1000~2000 尾を入れて行った。試験期間は卵では胞胚期から孵化までの 8 日間、仔魚では 5 日間であった。なお、Cd 汚染卵から孵化した仔魚の Cd 含量を求めるために、仔魚の蓄積性試験に用いたガラス水槽に、種々な濃度の Cd 供試水 3 l を取り、卵 1000 個を入れ、卵を発生させた。試験区は同濃度 2 区とした。そして孵化が始まると、孵化後 3 時間以内の仔魚を集めた。また、同濃度区の卵についても Cd 含量を求めた。取り上げた卵および仔魚は脱イオン水でよく洗い、Cd 分析用試料とした。分析試料の個体数は卵では 300 個、仔魚では 1000~2000 尾であり、斃死個体は除いた。供試水は毎日取り換えた。試験は 25°C で行った。

Cd 分析法 試験水の Cd は原子吸光法によって定量した。卵および仔魚の Cd 含量は岩島・葛原¹⁸⁾に従って、試料を王水、次に過塩素酸で湿式灰化し、0.5 N 硝酸溶液に溶解し、菅野¹⁴⁾の方法に従って、ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウムおよびメチルイソブチルケトンを用いて、Cd を抽出し、石尾ら¹⁹⁾に従って、0.5 N 塩酸溶液に逆抽出し、原子吸光法によって測定した。

結 果

供試水の Cd 濃度 卵に対する毒性および蓄積性試験期間中における供試水の Cd 濃度の変化を Table 1 に示す。毒性および蓄積性試験を通じて、最初の Cd 濃度と供試後の実測 Cd 濃度との間には大きな変化はなく、その変動範囲はほぼ 10% 以内であった。

卵の発生に及ぼす Cd の影響 0.1~4.0 ppm の Cd 濃度および対照区における卵の孵化率および平均孵化日

Table 1. Cd concentrations recorded in test solutions during the toxicity and accumulation tests on eggs of *Oryzias latipes*

Nominal Cd concentration (ppm)	Cd concentration determined (ppm)	
	Toxicity test	Accumulation test
Control	nil	nil
0.1	0.092 ± 0.009 (6)	0.092 ± 0.009 (5)
0.2	0.200 ± 0.018 (6)	0.217 ± 0.030 (6)
0.4	0.400 ± 0.025 (6)	0.378 ± 0.025 (6)
1.0	1.020 ± 0.036 (6)	1.000 ± 0.046 (5)
2.0	1.890 ± 0.048 (6)	2.020 ± 0.021 (5)
4.0	3.680 ± 0.110 (6)	3.550 ± 0.076 (6)

The numbers of sample water are shown in parenthesis.

Table 2. Percent hatchability and mean-hatch-time required for hatching out of the eggs of *Oryzias latipes* in water with different concentrations of Cd

	Cd concentration of test solution (ppm)													
	Control		0.1		0.2		0.4		1.0		2.0		4.0	
Hatchability	97	97	97	100	93	97	100	100	93	90	90	87	80	90
Mean	97		98		95		100		92		88		85	
χ^2 test (p=0.05)	—		NS		NS		NS		NS		NS		S	
Mean-hatch-time (days)	8.9	8.9	9.0	8.7	9.4	8.6	9.2	9.0	9.1	8.8	8.5	8.3	8.8	9.0

NS: not significant, S: significant.

Table 3. Percentages of abnormalities detected during 5 days on larvae of *Oryzias latipes* in water with different concentrations of Cd. Two larvae groups were used; one was exposed to the same concentration of Cd-water and the other was kept in Cd free-water, during their embryonic stage

Visual symptoms	Cd concentration of test solution (ppm)						
	0	0.1	0.2	0.4	1.0	2.0	4.0
Larvae with Cd pre-exposure							
Normal	100	100	94.8	30.0	0	0	0
Dashing swim	0	0	0	6.7	0	0	0
Paralysis	0	0	3.5	56.7	92.6	79.0	37.3
Death	0	0	1.8	6.7	6.7	21.0	62.7
Larvae without Cd pre-exposure							
Normal	100	100	80	0	0	0	0
Dashing swim	0	0	0	35	10	0	0
Paralysis	0	0	20	55	90	50	0
Death	0	0	0	10	0	50	100

Values are the mean obtained from duplicate tests.

数を Table 2 に示す。1.0 ppm 以上の Cd 濃度では孵化率は低下する傾向を示したが、対照区と比較した場合、有意な孵化率の低下は 4.0 ppm の Cd 濃度においてのみ認められた (χ^2 検定, $p=0.05$)。平均孵化日数は Cd 供試水および対照区とも 8.3~9.4 日間の範囲にあり、平均孵化日数と Cd 濃度との間には一定の傾向は認められなかった。また、Cd 供試水および対照区ともに、孵化した仔魚に、異常は発見されなかった。従って、メダカ卵の発生に対する Cd の影響は 4.0 ppm の Cd 濃度においてのみ、孵化率の低下として現われた。

仔魚に対する Cd の影響 胚発生に引き続き孵化後 5 日間 Cd 供試水に、接触させた仔魚および孵化後から接触させた仔魚ともに、0.2 および 0.4 ppm の Cd 濃度では 3 日目から、1.0 ppm 以上では 2 日目から、異常が現われた。異常症状は狂奔、不規則な遊泳に始まり、麻痺状態へと進み、死に至った。両仔魚における Cd 中毒の出現状況を Table 3 に示す。両仔魚ともに 0.2 ppm から仔魚に異常が出現し、Cd 濃度の増大と共に突進個体、平衡喪失個体および斃死が増加した。そして Cd 中毒の

出現状況からみると、孵化後に Cd と接触させた仔魚は、卵発生中に引き続き Cd と接触させた仔魚に比べ、Cd 中毒症状が強く現われる傾向を示した。特に、斃死個体の出現状況はそうであった。0.1 ppm および対照区では Cd 中毒症状は現われなかった。

卵による Cd の蓄積 卵の発生中、卵によって蓄積された Cd の量を Fig. 1 に示す。対照区の Cd 含量は 0.046 ± 0.015 ng/卵の範囲にあり、ほとんど Cd の蓄積はなかった。これに対して、0.1~4.0 ppm の水中 Cd 濃度では、卵は急速に Cd を蓄積し、その蓄積量は 0.1, 0.2 および 0.4 ppm では 2 日後に、それぞれ 32 ± 1.2 , 60 ± 0.5 および 78 ± 4.4 ng/卵、1.0, 2.0 および 4.0 ppm では 1 日後に、 121 ± 4.6 , 179 ± 8.9 および 280 ± 15.5 ng/卵に達した。卵の Cd 蓄積量は水中の Cd 濃度に応じた一定レベルとなった。なお、種々な Cd 濃度の供試水中で、胚発生期を過ぎた卵から孵化した仔魚および同試験区に存在する卵の Cd 含量を Table 4 に示した。いずれの Cd 濃度でも、孵化仔魚の Cd 含量は卵よりも低く、卵の Cd 含量の 0.3~1.9% の範囲であった。

Fig. 1. Accumulation of Cd by eggs of *Oryzias latipes* exposed to Cd in different concentrations.

Cd concentration: 0.1 ppm (○), 0.2 ppm (⊖), 0.4 ppm (⊕), 1.0 ppm (⊙), 2.0 ppm (●), 4.0 ppm (●).

Table 4. Cd contents in both newly hatched larvae and eggs just before hatch when the eggs of *Oryzias latipes* were exposed in water with different concentrations of Cd during hatching period through embryonic stage. The larvae used for Cd analysis were within 3 hours after hatch

Cd content (ng/individual)	Cd concentration of test solution (ppm)					
	0.1	0.2	0.4	1.0	2.0	4.0
larva	0.42	0.48	0.42	0.38	1.0	1.2
egg	22	43	68	124	112	210
larva/egg (%)	1.9	1.1	0.6	0.3	0.9	0.6

仔魚による Cd の蓄積 仔魚による Cd の蓄積状況を Fig. 2 に示す。試験開始前の仔魚は 0.013 ng/仔魚以下の Cd 含量であった。試験開始後、仔魚は急速に Cd を蓄積し、その蓄積量は Cd 濃度の増大および経時的に増大した。5 日後には、0.1, 0.4 および 2.0 ppm の Cd 濃度において、Cd の蓄積量はそれぞれ 2.6, 3.0 および 5.5 ng/仔魚となった。仔魚の Cd 蓄積量は卵の場合とは異なって試験期間中に平衡に達しなかった。

考 察

魚類の卵に対する Cd の影響は卵発生中の生残率および孵化率の低下として現われるとともに、ニシンの卵で

Fig. 2. Accumulation of Cd by larvae of *Oryzias latipes* exposed to Cd in the concentrations of 0.1 (□), 0.4 (△) and 2.0 ppm (○).

は孵化時間の短縮,^{16,17)} flounder,¹⁸⁾ bluegill¹⁹⁾ およびニジマス⁷⁾ の卵では孵化した仔魚に脊椎異常が現われる。またメダカ卵の発生に対する Cd の影響は 0.06 ppm,¹¹⁾ 0.005 ppm⁴⁾ および 0.001 ppm¹²⁾ の Cd 濃度で現われるとともに、孵化時間が短縮すると報告されている。^{4,11)} 本研究では 0.1~4.0 ppm の Cd 濃度であったが、メダカ卵の発生中に異常は現われず、Table 2 に示したように、ただ 4.0 ppm の Cd 濃度で孵化率の低下が見られただけで、上記したような異常は現われなかった。魚類に対する重金属の毒性は魚種によっても異なり、同一魚種でも地方差²⁰⁾があり、また水質によっても影響を受けることは知られている。Michibata¹⁰⁾ はメダカの卵に対する Cd の毒性が水の硬度の増大によって緩和することを明らかにしている。従って、希釈水として本研究では硬度 130 ppm (CaCO₃) の井水を用いたのに対し、青木¹¹⁾ の研究では硬度 0 ppm の脱イオン水を用いているので、本研究の結果と青木¹¹⁾ の報告との間に現われた大きな差異は希釈水の硬度の差異によると考えられる。しかし藤井・杉山⁴⁾ および平岡¹²⁾ の研究では希釈水として脱塩素水道水が用いられているので、本研究結果との間に現われた大きな差異が希釈水の硬度の差によるとは考えられず、その原因は不明である。

仔魚に対する Cd の毒性は 0.2 ppm の Cd 濃度以上で、死亡率の増大、突進および平衡喪失などとなって現われた (Table 3)。これらの Cd 中毒症状は Atlantic salmon⁶⁾ およびニジマス⁷⁾ 稚仔魚でも報告されている。青木¹¹⁾ は、Cd 中毒のメダカ仔魚の組織像の変化を調べ、

特に変化が著しかったのは脳であると述べている。従って、本研究において仔魚に現われた Cd 中毒症状は脳損傷に起因すると考えられる。メダカの卵に対する Cd の毒性は 4.0 ppm の Cd 濃度で (Table 2), 仔魚に対しては 0.2 ppm の Cd 濃度から現われ (Table 3), 仔魚は卵に比べ鋭敏な感受性を示した。Cd に対して仔魚は卵よりも感受性が高いことはメダカ¹¹⁾および他の魚種でも知られている。^{8), 19), 21), 22)} しかし fathead minnow では、ある胚発生期の卵が仔魚よりも Cd に対して、鋭敏な感受性を示すといわれている。²³⁾ このことは、魚種によって Cd の影響を受け易い時期が異なることを示している。

ニジマスでは Cd と接した卵から孵化した仔魚は、接しない卵から孵化した仔魚に比べ、Cd の毒性に対する抵抗性が高まるといわれている。⁷⁾ 魚類を Cd と予め接触させることによって、Cd に対し、抵抗性を獲得することは、ニジマス稚仔魚²⁴⁾ white suckers 成魚²⁵⁾ について報告されている。メダカの仔魚についても、卵を予め Cd と接触させると、孵化した仔魚の Cd に対する抵抗性が高まったことは Table 3 に示される結果からも明らかである。

メダカ卵の Cd 蓄積量は短時日で最大値に達し、その値は孵化前日まで維持された。また最大値は水中の Cd 濃度が増大すると高い値となった (Fig. 1)。同様な結果は Atlantic salmon の卵で報告されている。⁶⁾ また海産魚のニシン、¹⁶⁾ flounder¹⁸⁾ および garpike²⁶⁾ の卵では、Cd の蓄積量は速やかに最高値に達し、多少安定したレベルを維持するが、次第に減少し、本研究におけるメダカおよび Atlantic salmon 卵⁶⁾ による結果と少し異なった。しかし最大値は Cd の水中濃度と共に増大することは本研究結果と変らなかった。

Table 4 に示すように、卵の Cd 含量は孵化仔魚よりも非常に高かった。Wedemeyer²⁷⁾ によると、coho salmon 卵に蓄積された ⁶⁵Zn は卵膜、胚卵腔液、胚および卵黄にそれぞれ 70.8, 26.1, 2.3 および 0.8% 存在した。この卵における ⁶⁵Zn の存在割合をメダカ卵に蓄積された Cd の存在割合の参考にするならば、メダカの卵に蓄積した Cd の大部分は卵膜に存在すると推測された。メダカの卵における主要な Cd 蓄積部位が卵膜であることは、既に Michibata によって明らかにされている。^{9), 10)} 同様な結果は数種の魚類についても報告されている。^{7), 16-18)} これに対し、メダカの卵についての青木¹¹⁾の研究では、Cd が卵膜よりも卵黄および胚など卵内部に多量に蓄積すると報告しており、他の研究結果と大いに異なった。この原因は青木¹¹⁾が行った卵の Cd 取り込み試験がキャリアフリーの ¹⁰⁶Cd 溶液中で、しかも 0.0765 ppb という非常に薄い Cd 濃度条件下であったことと関係しているかもしれない。また卵膜における重金

属の結合部位について、herring の卵¹⁶⁾では卵膜中の mucopolysaccharide, coho salmon の卵²⁷⁾では卵膜の -SH group が結合部位であると推測されている。メダカ卵膜の構成成分は糖蛋白質であるので、この卵膜の糖蛋白質が Cd の結合部位と考えられる。

メダカの仔魚による Cd の蓄積量は時間の経過と共に増加したが、試験期間の 5 日間には平衡に達しなかった (Fig. 2)。同様な結果は海産魚のニシン、flounder および garpike の稚仔魚⁶⁾ および Atlantic salmon の稚仔魚⁶⁾ で報告されている。既述のように、メダカの仔魚の Cd 中毒症状は 2.0 ppm の Cd 濃度では 2 日後、0.4 ppm では 3 日後から現れた。その時、仔魚の Cd 含量は、2.0 ppm の Cd 濃度で 2.5 ng/仔魚、0.4 ppm の Cd 濃度で 1.4 ng/仔魚であった。0.1 ppm では現われなかったが、5 日後にはこの仔魚の Cd 含量は 2.6 ng/仔魚に達し、仔魚に Cd 中毒症状を起こすのに十分な Cd 含量となった。従って、試験期間を延長すると 0.1 ppm の Cd 濃度でも仔魚に Cd 中毒症状が現われるものと推測される。

Fig. 2 に示すように、メダカ仔魚の Cd 蓄積状況と、Fig. 1 に示す卵の Cd 蓄積状況は著しく異なる。Cd の蓄積量から見ると、水中の Cd 濃度範囲が 0.1~4.0 ppm のもとで、卵では Cd の蓄積量が 32~280 ng/卵であったのに対し、仔魚では水中の Cd 濃度範囲が 0.1~2.0 ppm のもとで、2.6~5.5 ng/仔魚であった。即ち、卵は仔魚よりも数十倍の Cd を蓄積した。メダカの卵がこのような高い蓄積量にもかかわらず正常に胚発生が進行するのは、蓄積された Cd は卵膜に留まり、胚および卵黄へは移行し難いため、これに対し、仔魚では吸収された Cd は直ちに組織へ移行し、障害を起こすと考えられる。

なおメダカ卵による Cd 蓄積は急速であり、24~48 時間で、卵の Cd 蓄積量が水中の Cd 濃度に応じた安定レベルに達し、しかもこの状態が孵化近くまで維持された。メダカの卵に蓄積された Cd と水中の Cd イオンとの間のこの平衡関係がいかなる蓄積現象と考えたらいのか、今後明らかにしたい。

文 献

- 1) J. M. Mckim: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **34**, 1148-1154 (1977).
- 2) D. J. Mount and C. E. Stephan: *Trans. Am. Fish. Soc.*, **96**, 185-193 (1967).
- 3) 田所 博, 前田正伸: 生態化学, **6**, 28-36 (1984).
- 4) 藤井清文, 杉山峯一: 生態化学, **6**, 9-16 (1983).
- 5) 板沢靖男, 小山次郎: 水生生物と重金属 (2) カドミウム, サイエンス社, 東京, 1982, pp. 1-192.

- 6) P. J. Rombough and E. T. Garside: *Can. J. Zool.*, **60**, 2006-2014 (1982).
- 7) J. H. Beattie and D. Pascoe: *J. Fish Biol.*, **13**, 631-637 (1978).
- 8) V. Dethlefsen, H. Westernhagen, and H. Rosenthal: *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, **27**, 396-407 (1975).
- 9) H. Michibata: *J. Fish Biol.*, **19**, 691-696 (1981).
- 10) H. Michibata: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **27**, 187-192 (1981).
- 11) 青木一子: 動物学雑誌, **87**, 91-97 (1978).
- 12) 平岡幸夫: 生態化学, **4**, 31-36 (1981).
- 13) 岩島 清, 葛原由章: 環境汚染分析法 (4) 重金属 (山果 登, 大喜多敏一編), 大日本図書, 東京, 1977, p. 55.
- 14) 菅野三郎: 分析化学, **19**, 877-879 (1970).
- 15) 石尾真弥, 大庭信良, 田中淑人, 田所尚二郎: 日水誌, **39**, 705-712 (1973).
- 16) H. Rosenthal and K. R. Sperling: in "The Early Life History of Fish" (ed. by J. H. S. Blaxter), Springer, Berlin, 1974, pp. 383-396.
- 17) H. Westernhagen, H. Rosenthal, and K. R. Sperling: *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, **26**, 416-433 (1974).
- 18) H. Westernhagen and V. Dethlefsen: *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **55**, 945-957 (1975).
- 19) J. G. Eaton: *Trans. Am. Fish. Soc.*, **103**, 729-735 (1974).
- 20) 田口茂敏: 生態化学, **13**, 4-8 (1980).
- 21) J. G. Eaton, J. M. Mckim, and G. W. Holcombe: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **19**, 95-103 (1978).
- 22) D. P. Middaugh and J. M. Dean: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **17**, 645-652 (1977).
- 23) Q. P. Pickering and M. H. Gast: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **29**, 1099-1106 (1972).
- 24) D. Pascoe and J. H. Beattie: *J. Fish Biol.*, **14**, 303-308 (1979).
- 25) D. A. Duncan and J. F. Klaverkamp: *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **40**, 128-138 (1983).
- 26) H. Westernhagen, V. Dethlefsen, and H. Rosenthal: *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, **27**, 268-282 (1975).
- 27) G. Wedemeyer: *Comp. Biochem. Physiol.*, **26**, 271-279 (1968).