関西自然保護機構会報 (13) 13—22, 1986.

海洋における指標生物 —ウニをテーマとして—[1)]

小　林　直　正
(同志社大学生物学研究室)

1. はじめに

科学技術，工業化社会の急激な発展と生活環境の向上などに伴って様々な廃棄物などの排出により環境汚染も進行してきた。その原因の主なるものとしては，海洋汚染ではいわゆる環境化学物質によるものが極めて多い。すなわち，石油類，流出油処理剤，合成洗剤，各種農薬，化学肥料，重金属類，その他各種有機，無機化合物などである。これらのものが，海産生物にどういう影響を与えるかについては，物理，化学的方法により個々の物質の解明と水中濃度を知ることが重要ある。しかし，生物学的方法により総合的に化学物質が生物の生理，生態，繁殖などに及ぼす影響をとえらることが最も重要である。殊に，通常汚染物質は単一で存在することはまずなく，殆んどの場合は複合状態にあり，それによる汚染物質間の共働作用，拮抗作用が起こることが当然考えられる。その結果，影響が極めて強く現われたり，著しく減ったりする。この現象は生物学的方法のみでとらえることができるのである。

生物を使った水の汚れの判定法は大別すると二つに分けられる。一つは長期間の影響（慢性有害度）を調べるもので，現実にその場所に永く住んでいる生物，特にあまり移動しない底生生物などの種類，数など(生物指標)を調べるものである。もう一つはある場所の，ある時点での水が特定生物に対する比較的短時間の影響（急性，亜急性，時としては更に長期の慢性有害度）を調べるもので，何が，どれだけ，どのような状態で含まれているかよく判らない時でも，生物に対する影響を知ることができる方法（生物検定法）である。広義にはこの両方を生物指標とすることもある。ここでは生物検定の場合についてウニ卵を中心に私の研究を述べる。

2. 生物検定の方法

生物検定には特定の生物を用いて，できるだけ短期間に，簡単，鋭敏，確実に汚染の影響の程度を数量的に表わし，また種々の特徴的な現象としてとらえ，検定できることが望ましい。使用生物としては，海藻，植物プランクトン，動物プランクトン，他養微生物，原生動物，腔腸動物，棘皮動物，線形動物，多毛類，軟体動物，甲殻類，魚類などがあげられる。これらについての総説を含んだ参考書「海洋環境のための生態毒物学的試験（英文）」が最近出版されたので是非参考にされたい (Persoone, Jaspers & Claus, 1984)。また無脊椎動物についての各種検定法の詳細については小林による「水汚染の生物検定」1985a などをみられたい。

ウニ受精卵による海水汚染判定の方法を簡単に記すと，汚染海水をそのまま試水として，ウニ卵の受精，発生をその中で行わせてその抑制，異常率を調べて汚染度を判定する(小林　1971, 1974, 1975, 1977, 1980, 1984, 1985 b, 1986 a, 小林・野上・土井　1972)。

3. 基礎実験

化学物質がいろいろな濃度に入った試水群をつくり，その中でウニ未受精卵（写真１）を受精させ，発生諸過程，すなわち正常な受精（受精膜形成，写真２），細胞分裂（写真３）のう胚形成（消化管など形成，写真６）の率と，それらの異常すなわち受精不能（受精膜不形成），多精（一度に多くの精子が卵にはいって受精し，やがて多くの細胞に分裂，写真４），細胞分裂停止，永久胞胚（胞胚のままで，のう胚になれない，写真５），外腸胚（消化管ができても外に飛び出す，写真７）の率を調べる。発生が正常に進むとプルテウスになってゆく。この正常か異常（発生のおくれ）かの率をも調べる。

1）重金属の影響

一般に高濃度では受精率の低下，細胞崩壊が目立ち，分裂停止もみられる。中濃度では多精が銅，カドミウム，クロムでよく見られ，時に鉛で著しい。発生は進んでゆくことが多いが，永久胞胚も多く，発生の遅れもよくみられる。外腸胚も時に現われるが，特に亜鉛で極めて著しい。低濃度下では影響は少なくなる。今迄に報告された主な重金属のウニ卵の受精，発生に対する最高無害濃度はほぼ次の通りである（表１）。これらの数字は研究

1）関西自然保護機構業績第38号

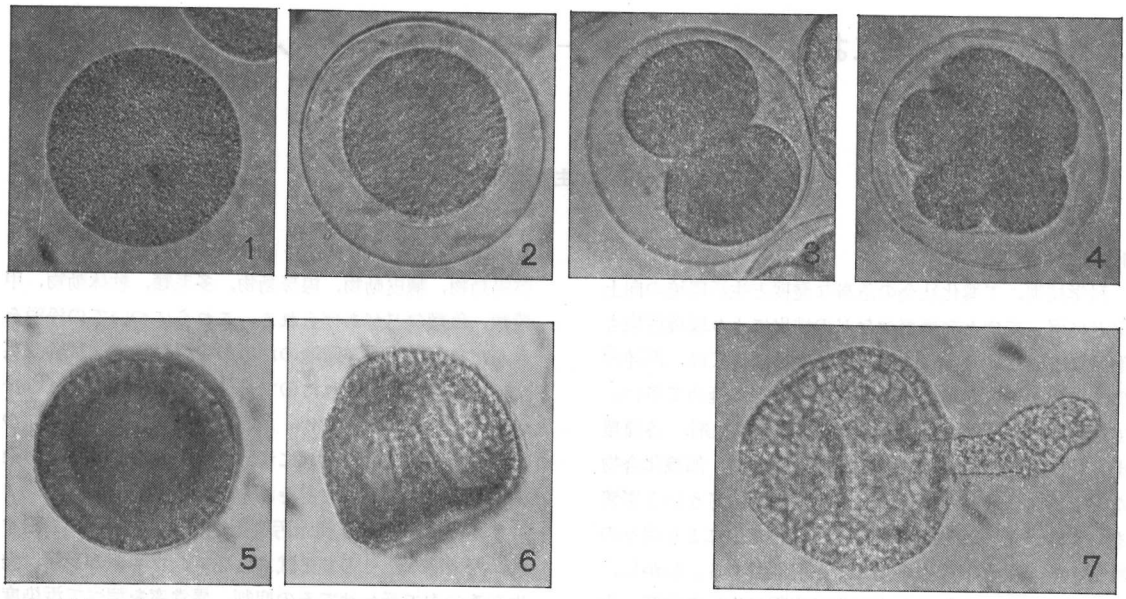


写真　ウニ卵の受精，発生の正常と異常　バフンウニ（水温17°C）　フォルマリン固定標本
1．未受精卵（正常）　2．受精膜形成（正常）＝加精子3分後　3．2細胞（正常）＝90分後　4．多細胞（多精）＝90分後（異常）
5．胞胚（正常）＝10時間後　6．嚢胚後期（正常）＝24時間後　7．嚢胚後期（外腸胚）＝24時間後（異常）　小林（1986a）

者により差がみられる。

重金属類を複合状態にすると，その影響が強まることが多く，銅と亜鉛の組合せが特に著しく，銅とカドミウム，亜鉛とカドミウムがそれに次ぐことが報告されている（小林・藤永1976）。また，重金属の毒性を緩和するためにキレート剤ＥＤＴＡを添加すると有効であり，特に銅に於て著しかった（小林1986b）。

2）その他の化合物の影響

一般に，高濃度の下では受精率の低下，細胞崩壊が目立つ。中濃度になると発生の遅れが殆どで，永久胞胚も多い。しかし重金属の場合と異なり，多細胞（多精），外腸胚は極めて少ない。低濃度では影響はより少なくなる。今迄に報告された主な化合物のウニ卵の受精，発生に対する最高無害濃度は，ほぼ次の通りである（表2）。これらの数値も研究者により差がみられる。また他の要因として，pHは7.8～8.6の間は無害で，水温は夏30℃，冬は20℃を超えなければ正常とみられる。

表1　ウニ卵に対する各種金属の最高無害濃度（小林，1980）

水　銀	0.01～0.03	アルミニウム	2.0
銅	0.006～0.06	クロム	1.0～6.0
亜　鉛	0.03～0.1	鉄	3.2～5.0
ニッケル	0.6～2.0	マンガン	6.6～10
カドミウム	0.8～3.6	コバルト	17～40
鉛	1.1～2.4		(ppm)

防汚剤（TBTO）0.0001

3）ウニの精子，卵，受精，発生の諸時期における各種化合物に対する感受性の比較

表3のバフンウニの例にみられるように，化合物全体として大体同じような傾向を示していて，感受性は精子＋卵＞精子＞卵＞のう胚期＞受精時＞胞胚期＞卵割期＞若成体の順である（小林1980）。

4）ウニの種類間の各種化合物に対する感受性の比較

5種のウニに対する4種の化合物の発生阻害限界濃度は表3に示す。受精，発生諸過程の諸化合物に対する感受性は5種のウニでほぼ同傾向とみられ，それらの順序は精子＋卵＞精子＞卵＞のう胚期＞変態期＞受精時＞胞胚期＞プルテウス＞卵割期＞若成体であろう。また4種の化合物に対する5種のウニの感受性は，普通のウニ3種はほぼ同じと考えられるが，他2種はより高い感受性を示す。その順序はほぼ *Heliocidaris* ＞ ヨツアナカシパン＞アカウニ＞バフンウニ＞ムラサキウニである。さらに4種の化合物の有害性の順序は，銅＞亜鉛＞ＡＢＳ（合成洗剤）＞アンモニアである。

なお，普通のウニの変態（ウニの形になる）には受精後1ケ月以上，数ケ月かかるが，ヨツアナカシパンと *Heliocidaris*(オーストラリア南東部産)は わずか3～5日で急速に変態する。銅による *Heliocidaris* の発生阻害限界濃度は 0.001ppmで，実験に用いたシドニー沿岸の海水中の銅の濃度は 0.003ppm といわれている。したがってこの限界濃度海水の全銅濃度は 0.004ppmとなる。つまりこのウニに影響を与える濃度は極めて低いといえる。これは実験条件などにより，感受性が更に高まったものと考えられるであろう。

これらの実験で用いたヨツアナカシパンや *Heliocidaris* の卵は，他のウニ卵と比べてはるかに感受性が高いことを示しているので，生物検定にはよい材料であるが，その使用は馴れないと大変難しいものである。一方，精子，受精，発生諸時期に対する各種化合物の影響の研究から，最も感度の高い生物検定法は，精子の短時間処理と卵の処理併用後の受精，発生という方法を用いることであるといえよう。（小林1980）

表2　ウニ卵に対する各種化合物の最高無害濃度（小林，1980）

PCP（除草剤）	0.01	アンモニア	1.0～3.2
PCB	0.02	フォルマリン	0.37～6.0
フタル酸エステル	0.1(DBP)	ヒ　素	1.5～3
	1.0(DOP)	タンニン酸	3.2
青　酸	0.03～1.0	セメントあく	10～20
パラチオン	0.32	油処理剤	1～320，20000
合成洗剤：LAS	0.16～1.0	各種石油	5～10000
ABS	0.25～1.5	フェノール	15.5～30
各種洗剤：LAS系	0.7～7	亜硫酸ソーダ	10～1000
高級アルコール系	4～30	亜硝酸ソーダ	20
無機系	50～4000	硝酸ソーダ	200
石　鹸	90～9000		(ppm)

表3　ウニ卵発生を阻害する化合物の限界濃度（銅・亜鉛・ABS・アンモニア）（小林，1984）

発生過程 / 化合物ppm	精子（受精前）−2～3分	卵（受精前）−3～6時間	精子・卵（受精前）−2～3分 −3～6時間	受精 0分	細胞分裂前（第1回）30分	胞胚	のう胚	以後段階
								プルテウス
ヨツアナカシパン　26℃						5時間	12時間	24時間
硫酸銅	0.005			0.01	0.02	0.02	0.005	0.02
塩化亜鉛	0.005			0.01	0.02	0.05	0.005	0.05
ABS	0.1			0.3	1.0	1.0	0.5	0.5
塩化アンモニウム	0.2			0.5	1.0	1.0	0.5	0.2
Hiliocidaris erythrogramma 24℃　オーストラリア								変態
						10時間	15時間	2.5日
硫酸銅	0.001			0.01	0.02	0.01	0.005	0.005
ムラサキウニ　26℃						4時間	12時間	
硫酸銅	0.02	0.02	0.01	0.05	0.1	0.1	0.05	
塩化亜鉛	0.02	0.05	0.01	0.05	0.1	0.1	0.05	
ABS	0.5	0.5	0.3	1.0	5.0	2.0	1.0	
塩化アンモニウム	1.0	1.0	0.5	2.0	5.0	5.0	2.0	
								1歳成体
パフンウニ　17℃（加温）						12時間	24時間	72時間
硫酸銅	0.01	0.01	0.01	0.05	0.1	0.1	0.05	1
塩化亜鉛	0.02	0.02	0.01	0.05	0.1	0.2	0.05	5
ABS	0.2	0.5	0.3	1.0	2.0	2.0	1.0	100
塩化アンモニウム	0.5	0.5	0.2	1.0	2.0	1.0	0.5	100
アカウニ　17℃						10時間	19時間	
硫酸銅	0.015			0.03	0.06	0.06	0.03	
ABS	0.5			1.0	2.0	2.0	1.0	

5）ウニ卵，カイ卵，フジツボ幼生，ワムシ間の感受性などの比較

表4に示すように，4種の動物に対する各種汚染物質の最高無害濃度を比較すると，ウニ卵とカキ卵はほぼ同じ感受性を示す。またウニ卵はフジツボ幼生，ワムシに比べてすべての感受性が相当に高い。全体的にみると，汚染物質の有害度の順序は銅，亜鉛，ＡＢＳ，アンモニアの順であり，また4種の動物の感度はウニ卵，カキ卵，フジツボ幼生，ワムシの順である。なお，温度条件はほぼ同じであり，化学物質中への浸漬時間はウニ12時間を除き20～24時間である。また動物の状態としては，ウニ，カキが最も敏感な受精，発生期で，フジツボが次いで敏感な幼生期で，ワムシは普通と考えられる成体を主としている。このことから，動物による感受性差は，種類によるものと，使用する時期の違いが反映しているのであろう。

表4　4種海産動物卵，幼生，成体に対する各種化合物の最高無害濃度（小林，1979）水温27℃または28℃

化合物ppm ＼ 動物	ウニ卵	マガキ卵	フジツボ ノープリウス	ワムシ
硫酸銅	0.06	0.02	1.0	0.2
塩化亜鉛	0.06	0.2	0.5	0.5
ＡＢＳ	1.5	0.5	5.0	20.0
塩化アンモニウム	3.0	20.0	20.0	500.0

4. 生物検定の実地調査例

1）田辺湾汚染調査

和歌山県白浜町，京大瀬戸臨海実験所の試験地の畠島周辺で水質変化を調べるために，1970年から年に数回継続調査をしている。現在まで実験所や水族館で使う流海水，畠島外洋側海水，畠島内湾側海水および田辺湾奥の綱不知桟橋付近海水（後の二つは旅館，家庭廃水や船舶，養殖の廃水などで多少汚れている）の4地点で調べている（図1）。今の所夏を除いて後の二者でも汚れは殆んど認められないが，時として極めて汚れた状態を示すこともあり，今後とも汚染の進行に注意を払いたい（表5）。特にここ2～3年，有害度の高い水が所々で，時にみられ，今迄の一般的傾向と異なってきている。その原因は養殖の過密化に伴う処置の一つとして，漁網防汚剤の使用が考えられる。これはウニ卵を使っての毒性検定によると極めて毒性が強いことが判った。この使用の中止が望まれる。なお，有害度の基準に関しては後に述べる。

2）瀬戸内海汚染調査と有害度基準Ⅰ（1972）

1971年夏，瀬戸内海汚染総合調査が関西十数校の大学学生，若手研究者によって行なわれた。その際採った200余種の海水を使ってウニ卵で検定を行なった結果，主要工業地帯の周辺部は殆んどがかなり汚れていた。これらの有害の程度はＣＯＤの値とは関連が少なく，重金属の底泥中の存在とは底層水で関連性がみられた。特に永久胞胚や外腸胚の出現が精錬所周辺海水でみられた。また底生動物からみた有害度とはこの検定である関係がみられた。これらをまとめた汚染地図は図2に示す。その基礎になった基準Ⅰ（1972）は表6に示す。

3）有害度基準Ⅱ（1974）

前述の有害度基準Ⅰは多数の試水があり，その汚染の著しいものが多い場合には時間的に，また評価に際して差をつけやすく能率的である。しかし，比較的数少ない試水で，汚染が著しくないものが多く，かつその差を明らかにしたい場合には難点がある。通常未受精卵を放置しておくと時間と共に傷んでゆき，受精，発生能力が減退し，傷みはじめると種々な条件に容易に影響されると

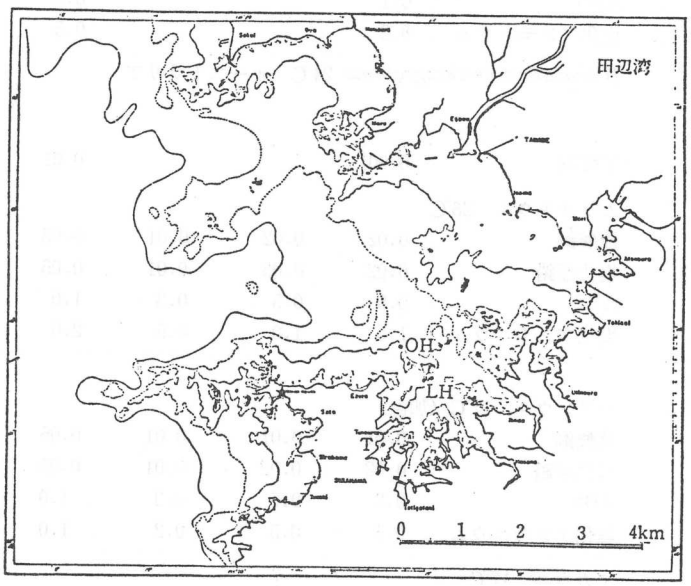


図1.　田辺湾周辺海域

★：京大瀬戸臨海実験所，中央部：畠島，OH：畠島外洋側 LH：畠島内湾側，
T：綱不知桟橋（小林，1986a）

考えられる。これを利用して，前述の検定法の所で述べたように，卵を試水に入れてすぐに受精させず，一定時間放置して後受精させると汚染に対する感度を上げる（差を拡大させる）ことができるし，更に有害度，段階の数字をよりきびしくすることができる（表7）。さらに，この感度に影響する要因としては無機物（重金属）の存在などはあまり著しくなく，有機的汚染の場合に著しくなるらしいことが判った。したがって，臨海工業地帯沖の海水汚染は全般的に汚染が著しく，判定には基準Ⅰでもよいであろうが，田辺湾のように有機物汚染の考えられる，比較的汚染の著しくない海水については基準Ⅱが適していると思われる。ただし，検定の時間が余計にかかるので，一調査で多数の試料を扱うことは困難になるし，また時期，水温によって試水中の卵の受精までの放置時間を適正に補正する必要もある。

表5　畠島周辺におけるウニ卵による生物検定結果（1986．加筆）

地点	年月	1970 2	5	6	7	8	8	10	11	1971 2	3	6	7	7	8	9	11	12	1972 1	3	4	5	6	7	8	8	9	11
実験所	流水	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
																												有害度基準Ⅱ→
畠島外洋側	表層		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	底層																										1	1	1	1
畠島内湾側	表層		2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	底層																										2	1	1	1
綱不知桟橋	表層					2	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1
	底層																										2	1	2	1

地点	年月	1973 2	3	5	7	8	9	11	1974 3	6	8	9	11	1975 2	3	5	7	9	12	1976 2	3	7	8	9	11
実験所	流水	1	1	1	1	1	1	1	←有害度基準Ⅰ					0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0												
畠島外洋側	表層	1	1	1	1	1	1	1						0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0
		0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0												
	低層	1	1	1	1	1	1	1									0					0		0	
		0	1	1	1	1	0	0			0														
畠島内湾側	表層	1	1	1	1	1	1	1						0	1	1	1	0	0	1	0	0		1	1
		2	2	1	2	2	1	1	2	0	1	1	0												
	底層	1	1	1	1	1	2	1						1	2	1	2	1	0	1		0		3	2
		2	2	1	2	2	3	2	3	1	2		0												
綱不知桟橋	表層	1	1	1	2	2	2	1						1	1	1	2	1	0	1	1	3	1	2	1
		2	3	2	3	3	2	1	2	1	2	1	0												
	底層	1	1	1	2	2	2	2						1	2	2	3	2	1	2		1	2	3	2
		2	3	2	3	3	3	2	3	1	3		1												

地点	年月	1977 2	4	6	8	1978 1	7	7	8	1979 1	7	8	1980 1	3	5	6	1981 1	7	1982 1	5	9	1983 2	5	7	9	1984 1	4	6	9	1985 1	3	7	9	1986 1	3
実験所	流水	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	←有害度基準Ⅱ				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
													有害度基準				Ⅲ→					0	0	0	0									
畠島外洋側	表層		0				0			0				0				0		0				0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	5
																				0															
	底層																			1				0				3	0			0	0		
畠島内洋側	表層	0	0				0			0				0				0		3	0	0													
																				3	1	1	1	0	1	5	1	0	3	0	0	5	1	0	1	5
	底層	1	1				3			1				1						0	0	1													
																				1	2	3	1		2	2	1	0	2	1	0	2	1	0	5	5
綱不知桟橋	表層	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0		1	5	1													
																				1	5	1	1	2	1	2	5	1	3	0	1	2	4	4	2	5
	底層	1	2	1	1	1	1	3	3	1	2	3	1	1	1	2				0	1	3													
																				1	4	3	2	2	2	2	4	1	3	2	5	2	1	2	3	1

但し1970～1973は基準Ⅰ，1973～1982は基準Ⅱ，1982～　　は基準Ⅲによる

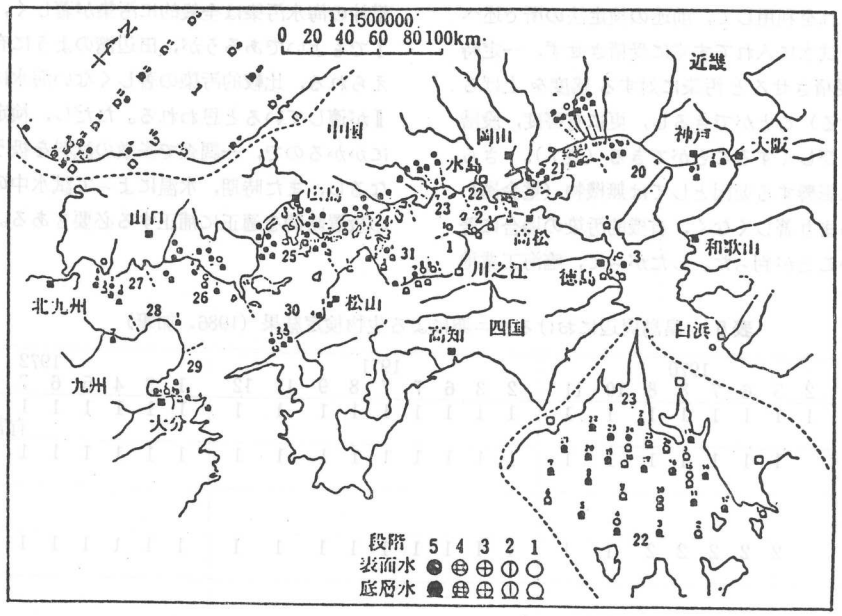


図2. 瀬戸内海の汚染地図（1971）ウニの受精，発生に対する影響を有害基準（Ⅰ）で示す。
大数字は採水日，小数字は地点番号（Kobayashi, Nogami &Doi, 1972）

4）有害度基準Ⅲ（1984）表8参照

最初に発表した有害度基準Ⅰ（1972）を改良した基準Ⅱ（1974）を更に一部改良したものを基準Ⅲ（1984）とする。諸基準は発生の時期としてプルテウス形成を加えたもので，その異常と正常を更に調べ，のう胚形成と同じ%区分をあてはめた。以上の諸点から基準Ⅱに対しⅢはよりきびしくなったと思われる。すなわちプルテウス期は，のう胚期より感度高く影響が現われるからである。なお，前述のようにこの基準を適用する検出法は予め精子を試水で短時間処理し，一方また予め試水で一定時間処理しておいた未受精卵とあわせて受精させ，その後の発生をプルテウスまで観察するものである。

有害度基準Ⅲは今までのⅡに代って有機物の多い水の影響が更に大きく出るといえるであろう。畠島周辺の海水の例では（表5参照），基準Ⅱでは段階0がⅢでは1に，1が2，2が3になるなどがみられた。したがって，ここで基準Ⅱは廃止してもよいと考えられる。

5）ウニ，カイ，フジツボおよびワムシを用いた実例

環境庁水質保全局（1980）では，瀬戸内海生物指標調査（昭和51年～54年度）で，4種の動物の適合性をみるために，瀬戸内海の10灘の岸で，種々の汚れの水を採取し，生物検定と理化学的水質分析を行なった。ウニ卵で

表6 ウニの受精，発生に対する有害度基準Ⅰ（KOBAYASHI, NOGAMI & DOI, 1972）

有害度	時期／段階	受精	細胞分裂（第1回）			のう胚形成			備考
		受精膜形成 %	1細胞 %	2細胞（正常）%	（多細胞）（多精）%	永久胞胚様 %	のう胚（正常）%	（外腸胚）%	発生異常
激有害海水	5	0～50	100～50	0～50	15～100	100～50	0～50	15～100	早期停止
強有害海水	4	51～59	49～41	51～59	11～14	49～36	51～64	11～14	遅滞変形
中有害海水	3	60～69	40～31	60～69	6～10	35～21	65～79	6～10	やや遅滞
弱有害海水	2	70～84	30～21	70～79	2～ 5	20～ 6	80～94	2～ 5	やや変形
普通海水	1	85～100	20～ 0	80～100	0～ 1	5～ 0	95～100	0～ 1	—

注）多細胞，多腸胚：出現頻度が低いので特別に考慮する。発生異常：それぞれ50%以上の状態で段階を分ける

表7　ウニの受精，発生に対する有害度基準Ⅱ（KOBAYASHI，1974）

有害度	時期／段階	受精	細胞分裂（第1回）			のう胚形成			備考
		受精膜形成 %	1細胞 %	2細胞（正常）%	（多細胞）（多精）%	永久胞胚様 %	のう胚（正常）%	（外腸胚） %	発生異常
激有害海水	5	0～50	100～50	0～50	15～100	100～25	0～75	15～100	早期停止崩壊
強有害海水	4	51～60	49～40	51～60	12～14	24～20	76～80	12～14	遅滞変形
中有害海水	3	61～70	39～30	61～70	9～11	19～15	81～85	9～11	やや遅滞やや変形
弱有害海水	2	71～80	29～20	71～80	6～ 8	14～10	86～90	6～ 8	—
微有害海水	1	81～90	19～10	81～90	3～ 5	9～ 5	91～95	3～ 5	—
普通海水	0	91～100	9～ 0	91～100	0～ 2	0～ 0	96～100	0～ 2	—

注）試水中に卵を放置する時間（受精まで）は夏期（水温26～28℃）は3時間，冬期（加温，17～19℃）は6時間が，対照卵の状態を普通海水中での範囲に止めるのに適当である。なお，のう胚形成率はふつうきわめて高いのでとくに調整を行った。

表8　ウニの受精，発生に対する有害度基準Ⅲ（小林，1984）

有害度	時期／段階	受精	細胞分裂（第1回）			のう胚形成			プラテウス形成		備考
		膜形成 %	1細胞 %	2細胞（正常）%	多細胞（多精）%	永久胞胚様 %	のう胚（正常）%	外腸胚 %	異常 %	正常 %	発生異常
激有害海水	5	0～50	100～50	0～50	15～100	100～25	0～75	15～100	100～25	0～75	早期停止ほう壊
強有害海水	4	51～60	49～40	51～60	12～14	24～20	76～80	12～14	24～20	76～80	遅滞変形
中有害海水	3	61～70	39～30	61～70	9～11	19～15	81～85	9～11	19～15	81～85	やや遅滞
弱有害海水	2	71～80	29～20	71～80	6～ 8	14～10	86～90	6～ 8	14～10	86～90	やや変形
微有害海水	1	81～90	19～10	81～90	3～ 5	9～ 5	91～95	3～ 5	9～ 5	91～95	—
普通海水	0	91～100	9～ 0	91～100	0～ 2	4～ 0	96～100	0～ 2	4～ 0	96～100	—

注）試水中に卵を放置する時間（受精まで）は夏期（水温26～28℃）は3時間，冬期（加温，17～19℃）は6時間が，対照卵の状態を普通海水の範囲に止めるのに適当である。

は受精，細胞分裂，のう胚形成及び発生異常の状況を調べた。カイ卵では卵割，仔貝の正常，異常な発生状況を調べた。これらの結果の分析はそれぞれウニ，カイの影響度基準に基づいて行なった（表9，10）。フジツボ幼生とワムシでは，その運動性に基づく生存率を調べた。

理化学的分析結果と生物検定結果との対照から，ウニ，カイ卵の発生，フジツボ，ワムシの活動（生存）に影響するものとしては，比較的高濃度に検出されたＴＯＣ，アンモニア態窒素，Ｔ－Ｎ，亜鉛が考えられた。しかし基礎実験によると，これらの物質に対する感受性は，ウニ，カイでは高く，フジツボ，ワムシでは相当低いと考えられる。また生物に相当な影響を示しながら，理化学的分析からは何等要因物質が判らない試水や，それらの分析値がより低いにも拘わらず，影響を示す試水もあって，それら検出物質の相乗作用，未検出物質の存在を強く示唆するとともに，生物検定の意義を更に認識させるようである。検定動物としては，ウニ，カイ卵は相当に感度が高く，フジツボは利用しやすいが感度が相当に低く，ワムシも同様であるが，これらを使うと異なる物質に対する感度の違いを利用して検定のできる可能性が考えられる。しかし基礎的知見が更に必要と思われる。これらの適合性の検討により，理化学的分析の欠点を補い，またはその代用の役割を果す可能性も考えられよう（瀬戸内海生物指標調査結果（昭和51年度～昭和54年度）－「海産動物の卵発生過程等による生物検定法」より。）

5．おわりに

生物検定用動物としての使用上の特色をみると，ウニでは受精，細胞分裂，のう胚の正常，異常が形態的にはっきりととらえられ，感度も高く，数量的に表わし得て12～24時間以内（夏と冬）に検定可能である。カイもこれに近いが，形態的変化はややとらえ難く，カイはウニの2倍の日時が検定に必要など不利な点もある。材料の入

表9　ウニの受精，発生に対する影響度基準（環境庁水質保全局，1980）

時期 / 影響度	受精	細胞分裂（第1回）			のう胚形成			備考
	受精膜形成 %	1細胞 %	2細胞（正常）%	（多細胞）（多精）%	永久胞胚様 %	のう胚（正常）%	（外腸胚）%	発生異常
3	0～50	100～50	0～50	15～100	100～50	0～50	15～100	早期停止
2	51～69	49～31	51～69	6～14	49～36	51～64	11～14	遅延変形
1	70～84	30～21	70～79	2～ 5	35～ 6	65～94	2～10	—
0	85～100	20～ 0	80～100	0～ 1	5～ 0	95～100	0～ 1	—

注）多細胞，外腸胚：出現頻度が低いので特別に考慮する。発生異常：それぞれ50%以上の状態で段階を分ける。
普通海水は0として生物一般に使われている50%致死量に相当する場合を3として4段階に分けた。その検定結果から，3時期について1つでも50%以下であれば，ウニ卵には影響度3となる。

表10　カイ卵の汚染海水による影響度基準
（環境庁水質保全局，1980）

段階	第一卵割異常%	仔介異常（発生，遅延，変形，停止）%
3	100～50	100～50
2	49～31	49～31
1	30～21	30～21
0	20～ 0	20～ 0

注）正常発生と異常発生（発生の遅延，変形，停止など）の割合を第1卵割，仔介形成を重点として調べる。普通海水は0とし，生物一般の検定に使われている50%致死率に相当する場合を段階3として，4段階に分ける。卵割，仔介の異常が1つでも50%以上であれば，総合判定は段階3となる。

手に難易を伴うこともあるが，何れかを使えばよいだろう。これらに対してフジツボは海辺の殆どどこにも住み，ほぼ年中生殖可能（暖地）であるので検定もいつでも可能となりうる。ただし特徴的な様々な異常をとらえ，また数量的に表わすことは困難で，特に運動している幼生では殆ど不可能である。これらの点はワムシも同様である。この二種は前の二種にくらべると検定の感度は相当低い。

以上，これら4種の動物のいずれかまたは適宜組合せれば，年中比較的短時日に，比較的容易に，かなり鋭敏に，また場合により定量的に海水汚染度状況を知ることも可能となる。しかし前に記したように理化学的分析結果とあわせて検討することが最もよいであろう。

今後ともウニやカイ卵殊に前者を中心に検定の感度の向上などに努めたい。一方，単に日本国内のみならず国際的に，同一種のウニ（分布の広いもの）についてその感度などを調べ，手法を統一して相互にデータを比較検討できる可能性を追求したい。インド太平洋ではナガウニ *Echinometra mathaei*，シラヒゲウニ *Teipneustes gratilla* などが対象となるであろう。

参　考　文　献

1）環境庁編　1980. 海産動物の卵発生過程等による生物検定法. 環境庁.

2）N. KOBAYASHI 1971. Fertilized sea urchin eggs as an indicatory material for marine pollution biossay, preliminary experiments. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 18, 379～406.

3）N. KOBAYASHI 1974. Marine pnllution bioassay by sea urchin eggs, an attempt to enhance accurracy. *ibid*, 21, 377～391.

4）小林直正　1977．海水の生物検定―ウニ受精卵を中心に―環境と生物指標２．水界編，共立出版284～293.
5）N. KOBAYASHI　1977．Preliminary experiments with sea urchin pluteus and metamorphosis in marine pollution bioassay. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 24, 9～21.
6）小林直正　1979．フジツボ幼生およびワムシによる海水汚染の生物検定の基礎的研究．同志社大理工研報，19：275～281.
7）小林直正　1980．ウニやカイと海水汚染―無脊椎動物の卵発生を中心に　動物と自然，10：22～27.
8）N. KOBAYASHI　1984．Marine Ecotoxcoxicological Testing with Echinoderms. In "Ecotoxicological Testing for the Marine Environment" (G. PERSOONE, E. JASPERS and C. CLAUS ed.), State Univ. Ghent, Vol. 1, 341～405.
9）小林直正　1985a．水汚染の生物検定．サンエンテイスト社.
10) N. KOBAYASHII　1985b．Marine pollution bioassay by sea urchin eggs, an attempt to enhance accuracy, II. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 30, 213-226.
11) 小林直正　1986a．環境化学物質汚染の指標としての海産生物幼生．環境化学物質と沿岸生態系．恒星社厚生閣　71～94.
12) 小林直正　1986b．ウニ受精卵に及ぼす重金属の阻害作用とＥＤＴＡによる回復（予報）．同大理工研報 26：267―273.
13) 小林直正・藤永薫　1976．ウニ卵の受精・発生に及ぼす重金属の阻害作用の相乗効果．同志社大理工研報，17：54～69.
14) N. KOBAYASHI, H. NOGAMI and K. DOI　1972．Marine pollution bioassay by using ses urchin eggs in the Inland Sea of Japan (Seto-Maikai). *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 19, 359～381.
15) G. PERSOONE, E. JASPERS and C. CLAUS　1984．Ecotoxicological Testing for Marine Environment. 2 Vols. State Univ. Ghent, 1385 p.