

両生類生態系における難分解性有機塩素系化学物質の挙動

門上希和夫（北九州市環科研）

武石全慈（北九州市自然史博）

倉本満，小野勇一（環境ホルモン北九州委）

第22回農業環境シンポジウム及び第2回有機化学物質研究会合同シンポジウム（つくば市）

平成14年9月

1 はじめに

過去50年間、多くの両生類が人間活動の影響で減少し、一部は絶滅に到っている。さらに、1980年代以降は人間活動が直接及ばない国立公園や自然保護区などでも減少が生じていることが世界的に報告されている¹⁻³⁾。その為、両生類の多くが、21世紀には絶滅するのではないかと懸念されている⁴⁾。このような両生類の生息数減少の原因としては、開発による生息場所の減少、各種排水による水質悪化、病気、新たな外敵の侵入、オゾン層の破壊に伴う紫外線(UV-B)の増加、地球温暖化、酸性雨の他に農薬等人工化学物質による環境汚染が考えられており、それらが複合的かつ相乗的に働いている可能性もある⁵⁾。

カエルに対する農薬等人工化学物質の影響の具体例としては、米国カリフォルニアにおける有機リン系農薬による個体数の減少がある⁶⁾。また、北米大陸で多発している奇形ガエルの発生は、農薬と寄生虫の相乗効果が原因であるとの説が報告されている⁶⁾。即ち、農薬により免疫機能が低下して吸虫に感染されやすくなり、肢芽部位に進入した吸虫が足の発達を物理的に妨害して奇形が発生するとの説である。

この様に化学物質が直接的・間接的に両生類に悪影響を与えている事実を踏まえると、両生類の化学物質への暴露実態の把握や生息環境における化学物質の挙動の解明が、化学物質の両生類への影響を評価（生態リスク評価）する上で非常に重要である。

我々は、北九州市の山田緑地で発見された過剰前肢を持つヤマアカガエル(*Rana ornativentris*)の原因究明の一環として、ダイオキシン類を含む有機塩素系化学物質を対象に、カエルの生息環境、カエル及びその卵の調査を実施し、カエルの汚染実態と生息地から体内へ^{7,8)}、さらに母体から卵への有機塩素系化学物質の動態の検討を行った。発生初期は、化学物質への感受性が最も高いと言われており、本調査で明らかとなった母ガエルから卵への化学物質の移行に関する情報は、カエルの生態リスク評価を行う上で特に重要と考えられる。

2 調査地域及び試料の採取

2.1 調査地域及び調査期間

調査対象とした山田緑地及び対照地2ヶ所を図1に示す。

山田緑地がある旧山田弾薬庫跡地は、北九州市のほぼ中央に位置する面積350ha、標高18-188mの森林である。同地の北と東には市街地が存在し、南には採石場、西は森林が続いている。同地は、1934年から旧日本陸軍により、戦後は1972年まで米軍により弾薬庫として使用され、米軍から返還後も立ち入りが禁止されていた地域であり、北九州市などが実施した生態調査において、16種のほ乳類、94種の鳥類、12種の両生類及び

646 種の植物が確認されている⁹⁾。1995 年 5 月に旧弾薬庫跡地の一部が自然公園（山田緑地）として開園した。

対照地 1 は、山間部の周囲を森に囲まれた場所であり、ヤマアカガエルが生息している。対照地 2 は、農業地域に位置し、周囲を水田、雑木林及びため池で囲まれた場所である。ここには、ニホンアカガエル(*Rana japonica*)が生息している。

2. 2 試料の採取

2. 2. 1 土壌（底質）

山田緑地では、15 地点で土壌（底質）を採取した。対照地 1 及び 2 では、各 2 地点で試料を採取した。

2. 2. 2 カエル及び卵（卵塊）

調査したカエルは、ヤマアカガエルとニホンアカガエルの 2 種である。山田緑地では、緑地中央の小さな池の周囲に罟を仕掛け、1999 年 1 月 20 日から 24 日にかけて両種を捕獲した。2ヶ所の対照地では、1999 年 1 月 19 日から 25 日の間に、対照地 1 ではヤマアカガエルを、対照地 2 ではニホンアカガエルをそれぞれ捕獲した。これら捕獲したカエルは、繁殖のために池など水たまりに集まってきたものであり、全てが成体である。化学分析に供したメスは、卵を持つ個体を選び、捕獲後直ちに卵を取り出して別々に保存した。

なお、別に 1998 年 1 及び 2 月に捕獲して冷凍保存していた 20 個体を DDT 類の分析に供した。

2. 3 化学分析

有機塩素系農薬及び PCB の分析は、「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質、底質、水生生物）」¹⁰⁾に従って行った。また、ダイオキシン類の分析は、土壌試料は「ダイオキシン類に係る土壌調査暫定マニュアル」¹¹⁾に、カエル及び卵（卵塊）は「ダイオキシン類に係る水生生物調査暫定マニュアル」¹²⁾に従ってそれぞれ実施した。

カエルは全身（メスは卵を除く）を、卵は卵塊全体をそれぞれ 1 試料とした。その為、試料の重量により検出限界値が若干異なる。また、卵のダイオキシン類分析を除き、化学分析に合わせて脂肪分を測定した。

なお、土壌及びカエルの分析は 1999 年に実施し、その結果を踏まえて -20°C で保存していた卵の分析を 2000 年に行った。

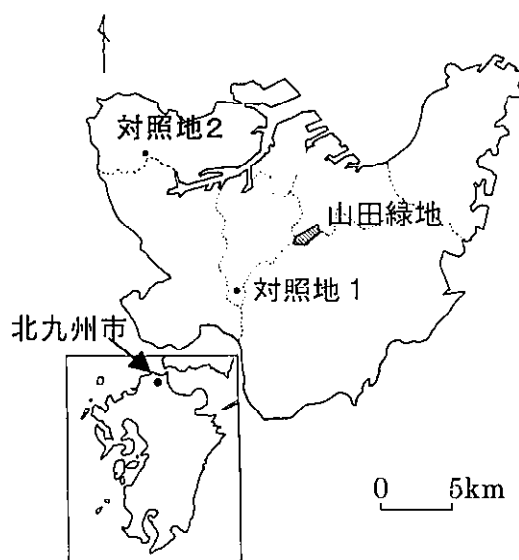


図 1 山田緑地及び対照 2 地域

3 結果

3.1 調査に用いたカエル及び卵の状況

調査3地域で捕獲したカエル2種の頭胴長、体重及び脂肪分を表1に示す。両種とも報告されている¹³⁾平均体長に比較し、大型であった。

脂肪分は、ヤマアカガエルではオス・メス間に脂肪分の差はなかった。ニホンアカガエルでは、山田緑地及び対照地2で捕獲した40個体のデータ全てを用いて比較した場合、メスの脂肪分がオスに比べ有意に($p < 0.05$)大きかったが、山田20個体と対照地2の20個体に分けて別々に検定した結果では、オス・メスで脂肪分に差は認められなかった。

ヤマアカガエルのオス・メスの各々の体長、体重及び脂肪分に関して、山田緑地と対照地1の地域差の有無を検定した。その結果、オスの体重及び脂肪分については、対照地1が山田緑地と比較し有意(共に $p < 0.01$)に大きく、メスでは、対照地1の体重が山田緑地に比べ有意($p < 0.01$)に大きいことが確認された。

表1 山田緑地及び対照地で捕獲したカエルの状況

項目	ヤマアカガエル				ニホンアカガエル				
	山田緑地		対照地1		山田緑地		対照地2		
	オス	メス	オス	メス	オス	メス	オス	メス	
試料数	10	11	11	9	10	18	18	13	
頭胴長 (mm)	平均	58	75.1	59.2	82.2	53.9	63.7	54	66.5
	標準偏差	2.49	9.05	3.22	7.14	3.18	5.85	5.18	3.78
体重 (g)	平均	14	25.9	17.8	38.3	12.2	17.3	11.6	19.5
	標準偏差	2.32	8.32	3.5	7.44	2.23	4.65	3.41	3.08
脂肪分 (%)	平均	1.05	1.07	1.45	1.33	1.22	1.63	0.92	1.07
	標準偏差	0.161	0.349	0.319	0.615	0.257	0.952	0.428	0.620

注) メスの体重は卵を除く

一方、ニホンアカガエルでは、山田緑地と対照地2のオス・メス共に体長、体重及び脂肪分に有意な差は認められなかった。

卵の分析は、1999年のカエルの分析結果において比較的高濃度が検出されたメスガエルの卵を有機塩素系農薬及びダイオキシン類分析用に各々10卵塊選んで行った。分析に供した卵とその親ガエルの状況を表2に示す。

3.2 PCB及び有機塩素系農薬の濃度

3.2.1 土壌

山田緑地の土壌(底質)のPCB及び有機塩素系農薬濃度を表3に示す。なお、対照2地域は、全て検出限界以下であった。

山田緑地からは、1997年調査¹⁴⁾と同様にDDT類が比較的高濃度で検出された。また、山田緑地に残存している倉庫内部の土壌を分析したところ、DDT類が約7,500 $\mu\text{g}/\text{kg dry}$ 検出された。これは、山田緑地の野外の土壌中のDDT類の検出値(平均43 $\mu\text{g}/\text{kg dry}$)と比較すると非常に高く、アメリカ軍によるDDTの使用を強く示唆している。また、同じ倉庫からディルドリンが420 $\mu\text{g}/\text{kg dry}$ 検出されていることも注目される。なお、その付近の集水マスの水からDDT類が3.9 $\mu\text{g}/\text{L}$ 検出され、倉庫からの流出が示唆された。

表2 卵の分析を行ったカエルと卵の状況

項目	有機塩素系農薬		ダイオキシン類		
	カエル	卵	カエル	卵	
試料数	10 ^a		10 ^b		
重量 ^c (g)	平均	24.2	13.5	28.9	15.7
	標準偏差	8.42	4.08	10.79	5.07
脂肪分 (%)	平均	1.02	5.59	1.16	- ^d
	標準偏差	0.291	0.623	0.337	-

a 有機塩素系農薬の分析に用いたヤマアカガエルとニホンアカガエルの試料数は、それぞれ6と4個体である。

b ダイオキシン類の分析に用いたヤマアカガエルとニホンアカガエルの試料数は、それぞれ4と6個体である。

c カエルの重量は、卵を除いたもの。

d 試料量が少ないため、測定せず。

表3 土壌のPCB及び有機塩素系農薬濃度 $\mu\text{g}/\text{kg dry}$

物質名	山田緑地, n=15		
	検出数	平均	標準偏差
4塩化ビフェニル	1	5	-
5塩化ビフェニル	1	42	-
6塩化ビフェニル	1	14	-
p,p'-DDT	6	43	31.0
o,p'-DDT	2	9	0
p,p'-DDE	9	38	49.8
o,p'-DDE	1	24	-
p,p'-DDD	6	84	168
o,p'-DDD	2	68	76.4

山田緑地の1~3塩化ビフェニル, 7~10塩化ビフェニル, HCB, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, H° ナフthalen, H° ナフthalenキノン, デイルドリン, cis-クロルデン, trans-クロルデン, オキシクロルデン, cis-ナフthalen, trans-ナフthalenは不検出。また, 対照2地域は, 全物質が検出限界以下。

PCBの検出限界は, $1\mu\text{g}/\text{kg dry}$ 。有機塩素系農薬の検出限界は, $5\mu\text{g}/\text{kg dry}$ 。

3.2.2 カエル

調査3地域のカエル中のPCB及び有機塩素系農薬濃度を表4に示す。山田緑地のカエルからは, DDT類及びオキシクロルデンがほぼ全ての個体から, HCH及びデイルドリンが一部の個体から検出された。また, DDT類では, DDE>DDT>DDDの順で検出率及び濃度が高かった。DDT類の検出濃度は, 実際の環境に生息するカエルに関する海外の報告値と比べて, やや低いか同程度であった¹⁵⁻²¹⁾。

カエルのDDT類は, 山田緑地が明らかに対照2地域に比べ検出頻度及び濃度とも高いが, オキシクロルデンの検出頻度は, 対照2地域でも比較的

高かった。また, DDT類濃度には, 相当な個体差があるのに比べ, オキシクロルデン濃度にはほとんど個体差がない。この理由としてクロルデンとDDTの蒸気圧が関係していると考えられる。クロルデンの蒸気圧は 1.3mP と, DDTの 0.025mP ²²⁾と比べて大きく, 容易に揮発拡散することが予想される。その為, DDT汚染が散布された場所を中心に局所的であるのに対し, 散布場所から広範囲に拡散していることが, 今回の結果から推定される。また, 生物では, 一般にオキシクロルデンのクロルデン類全体に占める比率は小さい²³⁾が, カエルではRussellら¹⁶⁾の調査及び本調査共, オキシクロルデンが大半を占めている。Kawanoら²⁴⁾は, 海洋生態系でのクロルデン類の挙動を調査し, 食物連鎖の上位生物において, クロルデン類組成に大きな差があることを見出し, 代謝能が生物により大きく異なるとしている。以上から, カエルではクロルデン類の代謝能が高いと考えられる。

表4 カエルのPCB及び有機塩素系農薬濃度

$\mu\text{g}/\text{kg wet}$

物質名	ヤマアカガエル (オス)						ヤマアカガエル (メス)						検出限界
	山田緑地			対照地1			山田緑地			対照地1			
	n=10			n=11			n=10 (n=11 for DDTs)			n=9			
	検出数	平均	標準偏差	検出数	平均	標準偏差	検出数	平均	標準偏差	検出数	平均	標準偏差	
5塩化ビフェニル	0	-	-	0	-	-	0	-	-	1	4	-	1~5
6塩化ビフェニル	0	-	-	0	-	-	0	-	-	1	9	-	1~5
α -HCH	1	5	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-	2~5
δ -HCH	0	-	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-	2~5
p,p'-DDT	3	17	13.9	0	-	-	2	8	4.9	0	-	-	2~5
o,p'-DDT	0	-	-	0	-	-	1	3	-	0	-	-	2~5
p,p'-DDE	5	50	64.7	0	-	-	4	5	2.1	0	-	-	2~5
p,p'-DDD	2	13	8.5	0	-	-	1	3	-	0	-	-	1~5
H° ナフthalen	0	-	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-	2~5
デイルドリン	1	12	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-	2~5
オキシクロルデン	10	6	1.1	2	4	0.7	0	-	-	0	-	-	2~5
脂肪分, %	10	1.05	0.161	11	1.46	0.319	11	1.07	0.349	9	1.33	0.615	

物質名	ニホンアカガエル (オス)						ニホンアカガエル (メス)						検出限界
	山田緑地			対照地 2			山田緑地			対照地 2			
	n=10			n=10 (n=18 for DDTs)			n=10 (n=18 for DDTs)			n=10 (n=13 for DDTs)			
	検出数	平均	標準偏差	検出数	平均	標準偏差	検出数	平均	標準偏差	検出数	平均	標準偏差	
5 塩化ビフェニル	0	-	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-	1~5
6 塩化ビフェニル	0	-	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-	1~5
α-HCH	0	-	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-	2~5
δ-HCH	0	-	-	0	-	-	1	5	-	0	-	-	2~5
p,p'-DDT	2	12	9.2	1	1	-	6	14	9.5	0	-	-	2~5
o,p'-DDT	0	-	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-	2~5
p,p'-DDE	8	29	55.7	3	3	3.2	12	30	54.5	2	1	0	2~5
p,p'-DDD	1	5	-	0	-	-	2	4	0.7	0	-	-	1~5
γ-カドミウム	0	-	-	0	-	-	0	-	-	0	-	-	2~5
デイルドリン	0	-	-	0	-	-	0	-	-	1	3	-	2~5
キシクロゲン	9	5	1.1	3	5.3	0.6	2	3	1.4	0	-	-	2~5
脂肪分, %	10	1.22	0.257	18	0.92	0.428	18	1.63	0.952	13	1.07	0.619	

1~4 塩化ビフェニル, 7~10 塩化ビフェニル, HCB, β-HCH, γ-HCH, γ-カドミウム, γ-カドミウムイソキッド, cis-クロゲン, trans-クロゲン, キシクロゲン, cis-ノナクロル, trans-ノナクロルは不検出。

3. 2. 3 卵

分析に供した卵塊の母ガエル体内からは、PCB が 13μg/kg wet, DDT 類が 5~97μg/kg wet, デイルドリンが 3μg/kg wet 及びオキシクロルデンが 4μg/kg wet 検出されている (表 5 参照)。特に高濃度の物質は DDT 類で、山田緑地では脂肪換算で 10μg/g fat を超えた個体があった。

卵からは、表 5 に示すように母体から検出された物質がほぼ全て検出されており、さらに卵だけから検出された物質も多い。卵の検出濃度は、PCB が 1~40μg/kg wet, DDT 類が 3~349μg/kg wet, デイルドリンが 2~18μg/kg wet 及びクロルデン類が 4~32μg/kg wet であり、母体の数倍である。検出物質の中では母体同様 DDT 類濃度が特に高く、山田緑地のニホンアカガエルの卵では 6μg/g fat を超えるものもあった。

表 5 メスガエルとその卵の PCB 及び有機塩素系農薬の濃度 μg/kg wet

物質名	メスガエル n=10		卵 n=10	
	検出数	平均	検出数	平均
5 塩化ビフェニル	1	4	1	15
6 塩化ビフェニル	1	9	5	5
7 塩化ビフェニル	0	—	1	3
δ-HCH	1	5	0	—
pp'-DDT	6	11	6	28
op'-DDT	1	3	0	—
pp'-DDE	7	23	9	58
pp'-DDD	2	4	4	10
デイルドリン	1	3	3	8
キシクロゲン	1	4	10	9
trans-ノナクロル	0	—	1	2

1~4 塩化ビフェニル, 8~10 塩化ビフェニル, HCB, α-HCH, β-HCH, γ-HCH, o,p'-DDE, o,p'-DDD, γ-カドミウム, γ-カドミウムイソキッド, cis-クロゲン, trans-クロゲン, cis-ノナクロルは不検出。

3.3 ダイオキシン類濃度

3.3.1 土壌

3地域の土壌（底質）中のダイオキシン類（PCDD/DF 及び Co-PCB）濃度を表6に示す。2,3,7,8-TCDD 毒性等価量（TEQ）の計算に使用した毒性等価係数（TEF）は、WHO の人/ほ乳類用 TEF（WHO, 1998年）である。また、検出限界未満の物質については検出限界の1/2の値を用いてTEQを計算した。なお、今回の土壌サンプルで検出限界以下のコンジェナーの総数は29であった。また、山田緑地のダイオキシン類の濃度分布を検証したところ、対数正規分布している事がわかった。

3地域間の差については、対照地の試料数がそれぞれ2サンプルずつしか無いため、統計的な解析は行っていない。山田緑地の土壌（底質）中のダイオキシン類のTEQは、2.5~175.4pg-TEQ/g dry と大きな差があり、1検体が1998年度のダイオキシン類緊急全国一斉調査²⁵⁾の最高値を超えていた。また、幾何平均値も16.0pg-TEQ/g dry と全国平均の2.5倍であった。

対照地1及び2の土壌中のダイオキシン類濃度は全国一斉調査の範囲内であるが、郊外の森林地帯に位置する対照地1の濃度は低く、農地のすぐ横の対照地2からは比較的高濃度の37.1pg-TEQ/g dry が検出された。

森林や水田は他の地域に比べて土壌中のPCDD/DF濃度が高いことが報告されている。これは森林では木の葉にダイオキシン類が取り込まれたり、土壌中の有機物含量が多いためである。また、水田ではベンタクロロフェノールやクロロニトロフェンといった除草剤が過去に使用されていたことによる²⁶⁾。

全国一斉調査の調査地点は主に非汚染地域を対象としており、このために山田緑地や水田地帯である対照地2のTEQ値が、全国平均より高かったものと考えられる。

3地域のPCDD/DFの同族体構成比を検討すると、山田緑地及び対照地1のPCDD/DFは東京の土壌の構成比²⁷⁾とほぼ同一であることから、燃焼由来と推定される。一方、対照地2では1,3,6,8-及び1,3,7,9-T4CDDが比較的に高濃度で検出されていることから、除草剤であるクロロニトロフェンの寄与が大きいと推定される。

Co-PCBは山田緑地の最上部に位置する池の底質から最高のTEQが検出され、さらに4~6塩化ビフェニールも同じ底質から5~42µg/kg dry 検出されている。この検出濃度は高濃度であるため、人為的なインプットがあったと推定される。一方、3地域19地点間でのCo-PCBの組成比の相関を計算した結果、相関係数の平均は0.975で非常に高かった。この高い相関及び比較的低い検出濃度から、3地域のPCB汚染は山田緑地最上部の池を除いては通常的环境と同じレベルと考えられる。

表6 山田緑地及び対照地における土壌中のダイオキシン類濃度（幾何平均値） pg/g dry

異性体	山田緑地 (n=15)	対照地1 (n=2)	対照地2 (n=2)	検出限界	異性体	山田緑地 (n=15)	対照地1 (n=2)	対照地2 (n=2)	検出限界
2,3,7,8-T4CDD	0.44	0.05	0.20	0.10	3,4,4',5'-T4CB	1.74	0.50	0.50	1.0
1,3,6,8-T4CDD	26.26	12.96	1,974.84	0.10	3,3',4,4'-T4CB	22.94	3.29	8.97	1.0
1,3,7,9-T4CDD	8.76	4.11	590.34	0.10	3,3',4,4',5'-P5CB	7.51	0.95	2.73	1.0
その他 T4CDDs	8.53	1.39	75.89	0.10	3,3',4,4',5,5'-H6CB	1.87	0.50	0.77	1.0
1,2,3,7,8-P5CDD	2.30	0.24	2.57	0.10	2',3,4,4',5'-P5CB	12.43	0.50	2.63	1.0
その他 P5CDDs	34.31	5.45	376.30	0.10	2,3',4,4',5'-P5CB	242.51	16.91	68.77	1.0
1,2,3,4,7,8-H6CDD	3.84	0.19	2.88	0.20	2,3,4,4',5'-P5CB	4.67	0.50	1.43	1.0
1,2,3,6,7,8-H6CDD	7.79	0.43	5.90	0.20	2,3,3',4,4'-P5CB	64.70	4.30	12.59	1.0
1,2,3,7,8,9-H6CDD	7.47	0.45	5.48	0.20	2,3',4,4',5,5'-H6CB	54.93	4.24	14.23	1.0
その他 H6CDDs	64.37	5.17	63.64	0.20	2,3,3',4,4',5'-H6CB	40.68	2.59	10.95	1.0
1,2,3,4,6,7,8-H7CDD	238.41	7.43	139.64	0.20	2,3,3',4,4',5'-H6CB	12.44	1.02	3.23	1.0
その他 H7CDDs	255.25	8.66	180.67	0.20	2,3,3',4,4',5,5'-H7CB	5.93	0.74	1.62	1.0
OCDD	4,257.20	302.99	3,818.88	0.50	総 Co-PCB	492.59	36.37	129.02	
総 PCDD	5,031.55	350.39	7,337.66		Co-PCB TEQ	0.87	0.11	0.30	
PCDD TEQ	7.86	0.51	6.09		総 TEQ	16.04	1.25	10.19	
2,3,7,8-T4CDF	2.72	0.33	1.17	0.10	総 TEQ (fish)*	11.80	1.04	7.98	
1,3,6,8-T4CDF	1.90	0.31	1.15	0.10	強熱減量, %	12.49	4.94	8.31	
その他 T4CDFs	56.07	8.66	136.24	0.10					

*WHO の魚類用 TEF (WHO, 1998) を用いて計算

1,2,3,7,8-P5CDF	4.43	0.57	2.42	0.10
2,3,4,7,8-P5CDF	3.81	0.50	1.82	0.10
その他 P5CDFs	54.88	6.84	59.75	0.10
1,2,3,4,7,8-H6CDF	8.47	0.88	6.26	0.20
1,2,3,6,7,8-H6CDF	5.98	0.71	3.45	0.20
1,2,3,7,8,9-H6CDF	0.38	0.10	0.33	0.20
2,3,4,6,7,8-H6CDF	8.67	0.94	5.66	0.20
その他 H6CDFs	76.90	5.28	41.35	0.20
1,2,3,4,6,7,8-H7CDF	91.29	4.59	39.75	0.20
1,2,3,4,7,8,9-H7CDF	7.17	0.53	5.30	0.20
その他 H7CDFs	109.08	4.38	49.96	0.20
O8CDF	221.54	7.07	108.17	0.50
総 PCDF	721.24	41.94	482.11	
PCDF TEQ	6.21	0.63	3.46	

3.3.2 カエル

カエル中のダイオキシン類の濃度を表7に示す。検出限界以下のコンジェナー数は土壌の場合よりもカエルの方が少なかったため、検出限界未満の物質については検出限界の 1/2 の値を用いて計算した平均 TEQ は、検出限界未満の濃度を 0 として計算した場合の 1.014 倍であった。山田緑地及び対照地2地域間の同一種のカエルでは TEQ に有意な差は見られなかった。

ダイオキシン類の平均 TEQ は、3地域とも 1998 年度のダイオキシン類緊急全国一斉調査²⁵⁾の水生生物の平均値 2.1 pg-TEQ/g wet を超えていた。特に山田緑地のカエルの PCDD+PCDF の TEQ は、全国平均の約 3.7 倍であった。カエルの高 TEQ は土壌の濃度を反映したものと考えられる。3地域でのカエルの PCDD/PCDF 比は、山田緑地のヤマアカガエルが 0.65、ニホンアカガエルが 0.70、対照地1が 0.74 と 1 以下であったが、対照地2では 4.1 であった。このように対照地2においてカエルの PCDD/PCDF 比が高いのは、土壌の高 PCDD/PCDF 比 (15.2) を反映しているためである (表6参照)。この結果からも、カエル体内の PCDD 及び PCDF 濃度は、生息地の状況をよく反映していると言える²⁸⁾。

Co-PCB では Non-ortho Co-PCB の構成比が、魚(3,3',4,4'-T4CB > 3,3',4,4',5-P5CB > 3,3',4,4',5,5'-H6CB)よりも人間の脂肪内(3,3',4,4',5-P5CB > 3,3',4,4',5,5'-H6CB > 3,3',4,4'-T4CB) のものと良く似ていた²⁹⁾。

カエル中の Co-PCB の TEQ が、総ダイオキシン類の TEQ に占める比率は 35%前後で、水生生物の全国平均 70%の半分程度であった。多くの陸上動物では総ダイオキシン類の TEQ に占める Co-PCB の比率が低いことが報告されており、本調査でも同様の傾向が見られた。

表7 山田緑地及び対照地で捕獲したカエルのダイオキシン類濃度（幾何平均値） pg/g wet

異性体	ヤマアカガエル				ニホンアカガエル			
	オス		メス		オス		メス	
	山田緑地 (n=10)	対照地1 (n=11)	山田緑地 (n=10)	対照地1 (n=9)	山田緑地 (n=10)	対照地2 (n=10)	山田緑地 (n=10)	対照地2 (n=10)
2,3,7,8-T4CDD	0.33	0.20	0.13	0.11	0.31	0.12	0.08	0.07
1,3,6,8-T4CDD	1.69	7.57	1.59	1.92	1.49	50.41	0.74	9.08
1,3,7,9-T4CDD	0.05	0.26	0.11	0.15	0.03	4.86	0.05	1.15
その他 T4CDDs	0.03	0.03	0.06	0.07	0.03	0.41	0.04	0.04
1,2,3,7,8-P5CDD	0.91	0.99	0.52	0.48	1.25	1.26	0.29	0.45
その他 P5CDDs	0.23	0.93	0.63	0.67	0.19	3.65	0.24	0.97
1,2,3,4,7,8-H6CDD	0.42	0.53	0.39	0.39	0.53	0.30	0.24	0.35
1,2,3,6,7,8-H6CDD	0.64	0.79	0.54	0.64	0.83	0.72	0.42	0.57
1,2,3,7,8,9-H6CDD	0.07	0.18	0.07	0.18	0.06	0.09	0.06	0.11
その他 H6CDDs	0.37	0.48	0.44	0.57	0.18	0.69	0.24	0.38
1,2,3,4,6,7,8-H7CDD	1.13	1.15	1.41	1.14	0.95	3.44	1.22	1.35
その他 H7CDDs	0.14	0.11	0.22	0.20	0.10	1.26	0.18	0.25
O8CDD	4.11	3.64	4.46	3.21	3.67	29.34	4.23	5.78
総 PCDD	10.95	19.14	10.91	10.11	10.49	108.92	8.49	22.55
PCDD TEQ	1.38	1.37	0.77	0.73	1.78	1.65	0.47	0.64
2,3,7,8-T4CDF	1.54	1.52	0.96	0.78	1.70	0.77	0.49	0.35
1,3,6,8-T4CDF	0.73	0.68	0.40	0.30	0.64	0.11	0.24	0.11
その他 T4CDFs	1.73	2.17	1.53	2.33	1.17	2.53	0.51	0.81
1,2,3,7,8-P5CDF	1.76	1.36	0.86	0.74	1.85	1.20	0.58	0.53
2,3,4,7,8-P5CDF	2.92	2.61	1.71	1.38	3.18	2.41	0.81	0.98
その他 P5CDFs	5.22	7.03	4.44	5.72	6.61	3.19	2.35	2.05
1,2,3,4,7,8-H6CDF	1.31	1.17	0.79	0.87	1.59	0.97	0.52	1.00
1,2,3,6,7,8-H6CDF	0.74	0.67	0.55	0.54	0.97	0.42	0.38	0.52
1,2,3,7,8,9-H6CDF	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
2,3,4,6,7,8-H6CDF	0.47	0.83	0.59	0.76	0.72	0.25	0.35	0.46
その他 H6CDFs	1.64	2.43	1.76	2.31	1.82	0.45	0.77	1.08
1,2,3,4,6,7,8-H7CDF	0.51	0.40	0.49	0.48	0.54	0.41	0.45	0.52
1,2,3,4,7,8,9-H7CDF	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.08
その他 H7CDFs	0.16	0.08	0.17	0.19	0.09	0.43	0.18	0.17
O8CDF	0.10	0.10	0.14	0.15	0.10	0.60	0.14	0.18
総 PCDF	19.89	21.78	14.90	17.02	21.90	16.58	8.27	9.59
PCDF TEQ	2.00	1.82	1.21	1.04	2.23	1.61	0.63	0.79
Co-PCB (Nonortho)								
3,4,4',5-T4CB	4.09	2.93	1.15	1.20	2.68	3.40	0.98	0.83
3,3',4,4'-T4CB	1.36	1.54	0.72	0.88	3.09	2.03	1.32	0.81
3,3',4,4',5-P5CB	19.36	17.66	8.04	6.80	19.96	15.28	4.42	4.07
3,3',4,4',5,5'-H6CB	5.98	5.31	3.71	2.70	7.36	5.08	1.99	1.79
Co-PCB (Monoortho)								
2',3,4,4',5-P5CB	13.18	7.42	4.63	2.93	13.72	9.48	2.65	2.42
2,3',4,4',5-P5CB	308.41	239.31	117.85	133.49	253.58	175.29	60.18	57.31
2,3,4,4',5-P5CB	6.80	4.42	1.77	1.68	8.62	4.76	1.46	1.47
2,3,3',4,4'-P5CB	47.20	40.62	18.19	15.58	80.60	51.39	15.74	13.78
2,3',4,4',5,5'-H6CB	66.99	46.80	31.67	22.51	83.74	55.40	17.62	18.05
2,3,3',4,4',5-H6CB	68.73	46.57	30.52	27.70	84.32	60.25	18.57	17.89
2,3,3',4,4',5'-H6CB	24.79	18.26	11.52	9.45	31.84	19.46	7.18	6.09
2,3,3',4,4',5,5'-H7CB	21.14	15.75	14.94	10.12	23.01	13.92	8.20	6.81
総 Co-PCB	590.69	449.56	246.61	241.79	618.40	423.95	142.31	133.97
Co-PCB TEQ	2.09	1.89	0.88	0.78	2.17	1.65	0.49	0.45
総 TEQ	5.50	5.13	2.88	2.59	6.19	4.99	1.62	1.91
総 TEQ (fish)*	3.52	3.33	2.06	1.84	4.18	3.33	1.16	1.51
脂肪分 %	1.04	1.42	1.07	1.24	1.20	0.88	0.83	0.83
総 TEQ (pg/g fat)	530.04	360.19	268.96	209.12	517.09	570.29	196.16	230.03

* WHOの魚類用 TEF (WHO, 1998) を用いて計算

3.3.3 卵

卵を分析した母ガエルと卵のダイオキシン類濃度を表8に示す。母ガエルからは、湿重量換算で

PCDD/DF が 19~208pg/g wet (平均 54pg/g wet), Co-PCB が 131~375pg/g wet (平均 242pg/g wet), 総ダイオキシン類が 173~424pg/g wet (平均 296pg/g wet) 検出されている。また, それらの平均脂肪換算濃度は, PCDD/DF が 5,330pg/g fat, Co-PCB が 21,500pg/g fat, 総ダイオキシン類が 26,900pg/g fat である。

表 8 メスガエルとその卵のダイオキシン類濃度 (幾何平均) pg/g wet

異性体	カエル (n=10)		卵 (n=10)		検出限界
	濃度	検出数	濃度	検出数	
2,3,7,8-T4CDD	0.15	10	0.58	10	0.1
1,3,6,8-T4CDD	2.85	10	12.03	10	0.1
1,3,7,9-T4CDD	0.28	9	0.83	10	0.1
その他 T4CDDs	0.13	8	0.38	10	0.1
1,2,3,7,8-P5CDD	0.68	10	2.31	10	0.1
その他 P5CDDs	0.90	10	2.81	10	0.1
1,2,3,4,7,8-H6CDD	0.51	10	1.40	10	0.2
1,2,3,6,7,8-H6CDD	0.83	10	2.20	10	0.2
1,2,3,7,8,9-H6CDD	0.29	6	0.63	10	0.2
その他 H6CDDs	0.60	10	1.23	10	0.2
1,2,3,4,6,7,8-H7CDD	1.90	10	2.41	10	0.2
その他 H7CDDs	0.47	9	0.27	8	0.2
O8CDD	7.67	10	4.24	10	0.5
2,3,7,8-T4CDF	0.90	10	3.85	10	0.1
1,3,6,8-T4CDF	0.40	9	1.79	10	0.1
その他 T4CDFs	1.90	10	10.33	10	0.1
1,2,3,7,8-P5CDF	0.95	10	2.70	10	0.1
2,3,4,7,8-P5CDF	1.79	10	5.71	10	0.1
その他 P5CDFs	5.75	10	20.23	10	0.1
1,2,3,4,7,8-H6CDF	1.50	10	3.49	10	0.2
1,2,3,6,7,8-H6CDF	0.77	10	1.67	10	0.2
1,2,3,7,8,9-H6CDF	0	0	0.24	2	0.2
2,3,4,6,7,8-H6CDF	0.88	10	1.98	10	0.2
その他 H6CDFs	2.60	10	6.92	10	0.2
1,2,3,4,6,7,8-H7CDF	0.80	10	0.99	10	0.2
1,2,3,4,7,8,9-H7CDF	0.33	3	0.69	4	0.2
その他 H7CDFs	0.42	10	0.45	8	0.2
O8CDF	0.69	6	1.50	3	0.5
Co-PCB					
3,4,4',5-T4CB	1.05	10	5.79	10	1
3,3',4,4'-T4CB	0.80	10	2.71	10	1
3,3',4,4',5-P5CB	7.56	10	24.51	10	1
3,3',4,4',5,5'-H6CB	3.30	10	8.43	10	1
2,3,4,4',5-P6CB	3.91	10	14.11	10	1
2,3',4,4',5-P6CB	110.15	10	435.56	10	1
2,3,4,4',5-P5CB	2.02	10	8.74	10	1
2,3,3',4,4'-P5CB	18.52	10	86.30	10	1
2,3',4,4',5,5'-H6CB	28.25	10	57.51	10	1
2,3,3',4,4',5-H6CB	27.52	10	82.93	10	1
2,3,3',4,4',5'-H6CB	10.24	10	28.39	10	1
2,3,3',4,4',5,5'-H7CB	12.17	10	25.89	10	1

卵からは, 湿重量換算で PCDD/DF が約 38~541pg/g wet (平均 158pg/g wet), Co-PCB が約 289~1,960pg/g wet (平均 952pg/g wet), 総ダイオキシン類が, 約 327~2,110pg/g wet (平均 1,110pg/g wet) 検出されており, 有機塩素系農薬と同様に母体の約 3.8 倍であった。また, 卵の平均脂肪換算濃度は, PCDD/DF が約 2,830pg/g fat, Co-PCB が約 17,000pg/g fat, 総ダイオキシン類が約 19,900 pg/g fat であり, 母体の約 70%であった。母体と卵の TEQ 値を比較したところ, 湿重量換算濃度と同様に卵の TEQ 値は母体より 3.8 倍大きかった。このことから, 土壌からカエルへの移行で見られた 2,3,7,8-体の選択的な生物濃縮は, 母体-卵間では見られないことが確認された。

4 考察

4.1 カエルの種及び体重(体長)による濃度差

調査した2種のカエルの体内濃度に差があるか検討を行った。ダイオキシン類の濃度は正規分布よりも対数正規分布をしていたため、分析値を対数に変換して検定をした結果、山田緑地の2種類のカエルの同一性間ではPCDD/DF及びCo-PCBの脂肪換算濃度に差は見られなかった。

一方、2種のメスの総DDT濃度に有意な差(ニホンアカガエル>ヤマアカガエル, $p < 0.05$)が認められた。しかし、オスのDDT類やそれ以外の検出物質には、両者の濃度に有意な差はなかった。両者は、生育場所が同一地域であるだけでなく、変態後は繁殖時以外は陸上に住むという生活史が似ていること、さらにエサもほぼ同一であることから、体内濃度に差がないことは妥当と考えられ、本当にメスのDDT濃度に種差があるのか、またあるならばその原因は何か、今後検討が必要である。

次に、カエルの年齢とダイオキシン類濃度に相関があるかどうかを検討した。カエルの体重と年齢とは比例するため³⁰⁾、本検討では年齢の代わりにカエルの体重を用いた。また、メスではダイオキシン類が卵に移行すると予想されるため、オスを用いて体内のPCDD/DF及びCo-PCBの濃度と体重との相関を検定した。その結果、体重とダイオキシン類濃度間では、山田緑地のヤマアカガエルのみ正の相関が見られ、山田緑地のニホンアカガエル及び対照地のカエルでは相関は見られなかった。

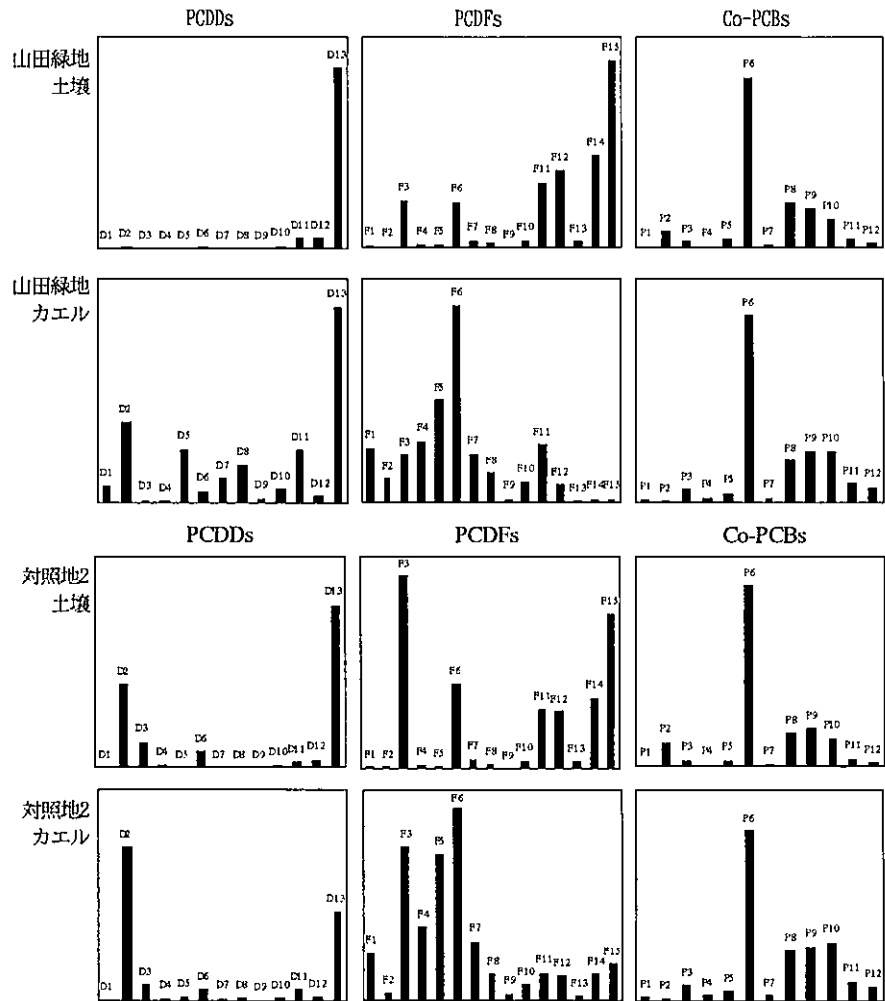


図2 山田緑地及び対照地2のPCDD/PCDF及びCo-PCBの異性体構成比

コンジェナー濃度は幾何平均である。土壌はdryベース、カエルは脂肪ベースで算出。

D1, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (T4CDD); D2, 1,3,6,8-T4CDD; D3, 1,3,7,9-T4CDD; D4, Other T4CDDs; D5, 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzo-*p*-dioxin (P5CDD); D6, Other P5CDDs; D7, 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzo-*p*-dioxin (H6CDD); D8, 1,2,3,6,7,8-H6CDD; D9, 1,2,3,7,8,9-H6CDD; D10, Other H6CDDs; D11, 1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodibenzo-*p*-dioxin (H7CDD); D12, Other H7CDD; D13, octachlorodibenzo-*p*-dioxin; F1, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (T4CDF); F2, 1,3,6,8-T4CDF; F3, Other T4CDFs; F4, 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzofuran (P5CDF); F5, 2,3,4,7,8-P5CDF; F6, Other P5CDFs; F7, 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran (H6CDF); F8, 1,2,3,6,7,8-H6CDF; F9, 1,2,3,7,8,9-H6CDF; F10, 2,3,4,6,7,8-H6CDF; F11, Other H6CDFs; F12, 1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodibenzofuran (H7CDF); F13, 1,2,3,4,7,8,9-H7CDF; F14, Other H7CDFs; F15, octachlorodibenzofuran; P1, 3,4,4',5'-tetrachlorobiphenyl (T4CB); P2, 3,3',4,4'-T4CB; P3, 3,3',4,4',5'-pentachlorobiphenyl (P5CB); P4, 3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (H6CB); P5, 2',3,4,4',5'-P5CB; P6, 2,3',4,4',5'-P5CB; P7, 2,3,4,4',5'-P5CB; P8, 2,3,3',4,4'-P5CB; P9, 2,3',4,4',5,5'-H6CB; P10, 2,3,3',4,4',5'-H6CB; P11, 2,3,3',4,4',5'-H6CB; P12, 2,3,3',4,4',5,5'-heptachlorobiphenylである。

4.2 土壌とカエル間でのダイオキシン類濃度の関係

ダイオキシン類の生物濃縮については、塩素数やその置換パターンにより異なることが知られている。陸上の

両生類では疎水性化学物質は主に経口経路で体内に蓄積される³¹⁾ため、土壌中のダイオキシン類がカエルの体内濃度に直接影響を与える可能性は少ない。しかし、カエルの栄養段階は低く、対象2種は共に昆虫、その幼虫、ミミズやナメクジ等を餌としていることから、土壌中のダイオキシン類は間接的ではあるがカエルの体内濃度に強く影響を与えていると考えられる。このことは、図2に示したカエルと土壌の異性体構成比が調査地域毎にそれぞれ類似していることから裏付けられる。

カエルにおけるPCDD/DF及びCo-PCBの摂取と排泄を明らかにするために、山田緑地の土壌とオスガエルのダイオキシン類の濃度比を検討した。オスガエルの脂肪換算濃度と土壌濃度(dry)の比を図3に示すが、次の3点が明らかとなった。第一に、PCDD/DFの生物濃縮率は、Co-PCBよりもかなり低いことが確認された。カエル中のCo-PCB濃度(脂肪換算)は、土壌(3,3',4,4'-T4CBは除く)に比べて85~330倍あったが、PCDD/DFは土壌に対し70倍以下であった。PCDD/DFの濃縮率が低い理由としては、PCBに比べて生分解が速いことと、他の水生生物で報告^{32,33)}されているようにPCDD/DFの吸収効率が低いためと考えられる。これらの結果から、カエルにおけるPCDD/DFの生物濃縮率は、PCB等の疎水性の塩素化芳香族炭化水素よりもかなり低い事が確認された。

第二に、PCDD/DFの生物濃縮率は、塩素数が増すにつれて減少することが分かった。これは高塩素化体ほど分子が大きくなり膜を通過しにくくなるためである³³⁾。一方、Co-PCBでは、塩素数に比例して生物濃縮率が大きくなり、さらに塩素の置換位置が生物濃縮に強く関与していることが分かった。例えば、3,3',4,4'-P4CBでは、土壌に対するカエルの脂肪換算濃度は10倍以下であり、他のCo-PCBに比べてもかなり低かった。3,3',4,4'-P4CBについては、魚においても生物濃縮率が低い事が報告³⁴⁾されており、3,3',4,4'-P4CBは代謝されやすいことが認められた。

第三に、他の水生生物と同様に、カエルにおいても、2,3,7,8-体の生物濃縮率が、非2,3,7,8-体と比べて非常に大きいことが認められた^{32,35)}。2,3,7,8-体は、非2,3,7,8-体と比べて代謝を受けにくく体内残留性が高いためである。しかし例外もあり、1,3,6,8-T4CDFの生物濃縮率は、2,3,7,8-T4CDFとほぼ同じであった。以上から、カエルにおいてもPCDD/DFの2,3,7,8-体が、選択的に体内に濃縮されると結論できる。この2,3,7,8-体の選択的濃縮は、カ

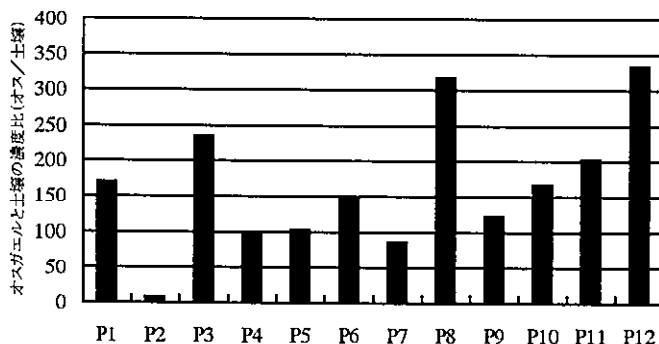
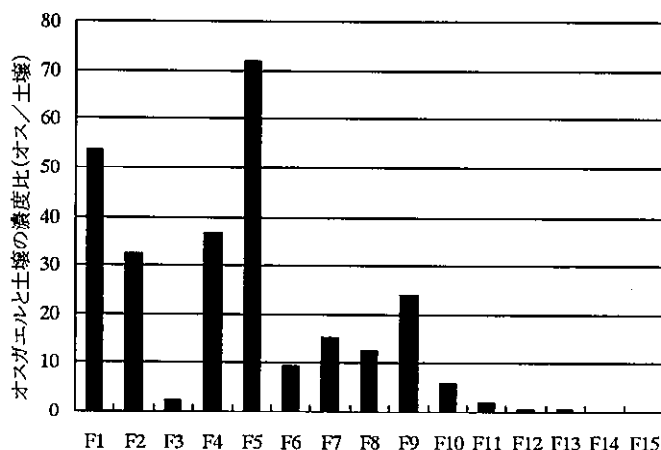
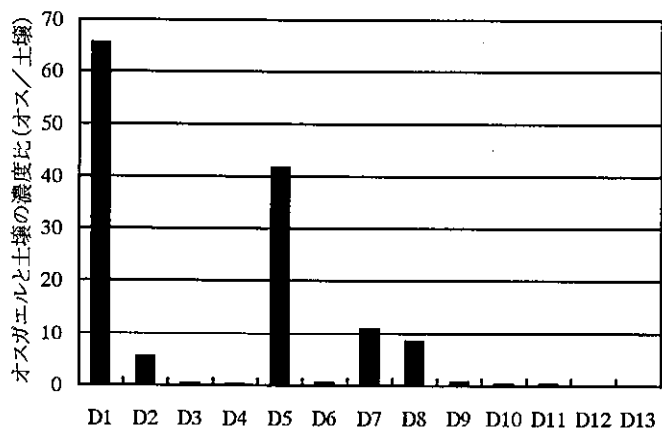


図3 山田緑地におけるカエルと土壌の異性体別濃度比(カエル fat/土壌 dry)
注) 略号は図2 参照

エルにとっては大きな問題になると思われる。なぜならば、PCDD/DFでは、2,3,7,8体だけが毒性のある化合物として分類されるからである。カエルのPCDD/DF濃度（湿重量換算）は、土壌の0.5%しか占めていないが、そのTEQ値は土壌に対して36%に達する。

4.3 検出濃度の性差

4.3.1 PCB及び有機塩素系農薬

オスとメスの有機塩素系農薬濃度を比較した結果、オスの濃度が高い傾向が見られた。そこで、本調査以前に行った（1998年調査）結果を含む山田緑地のヤマアカガエル及びニホンアカガエルの全ての測定値を用い、オス・メスの濃度に有意な差があるか検定した。

総DDT濃度は、正規分布及び対数正規分布を取っていないため、代表的なノンパラメトリック検定法であるマン・ホイットニーのU検定を行った。その結果、ニホンアカガエルでは有意な差はなかったが、ヤマアカガエル及び2種のカエル全体では、オスの濃度がメスに比較して有意（ $p < 0.01$ ）に高濃度であることが分かった。

オキシクロルデンも同様にマン・ホイットニーのU検定で濃度に性差があるかどうかを検定した結果、山田緑地のオスはメスに比較して有意（ $p < 0.001$ ）に高濃度であることが分かった。

以上から、疎水性の高い有機塩素系農薬濃度は、オスがメスに比べ体内濃度が高いことが確認された。

4.3.2 ダイオキシン類

有機塩素系農薬と同様にダイオキシン類濃度（湿重量換算）に性差があるか、3地域で捕獲した全てのカエルを使用して検討を行なった。その結果を図4に示すが、オスがメスに比べて高濃度であることが確認された。しかし、有意さが認められたのは、PCDDでは主に4～6塩素化体、PCDFでは4及び5塩素化体であった。一方、Co-PCBでは塩素数に拘わらず有意な差があった。

そこで、母体と卵を合わせた濃度とオスの濃度の比較を行った。卵の分析を行ったメスガエルは、調査したカエルの中でも比較的高濃度の個体であるため、その平均濃度と全個体の平均濃度の比から全個体の卵濃度を推定した上で、全個体の母体と卵を合わせた濃度を求めた。その結果、図4に示した(Female+EggとMale)ように全ての異性体において、オス・メス間で有意に認められた濃度差が無くなった。即ち、卵を含むメスの湿重量換算濃度とオスの濃度は、ほぼ同一となった。

調査した2種と同じアカガエル科に属するトノサマガエル (*Rana*

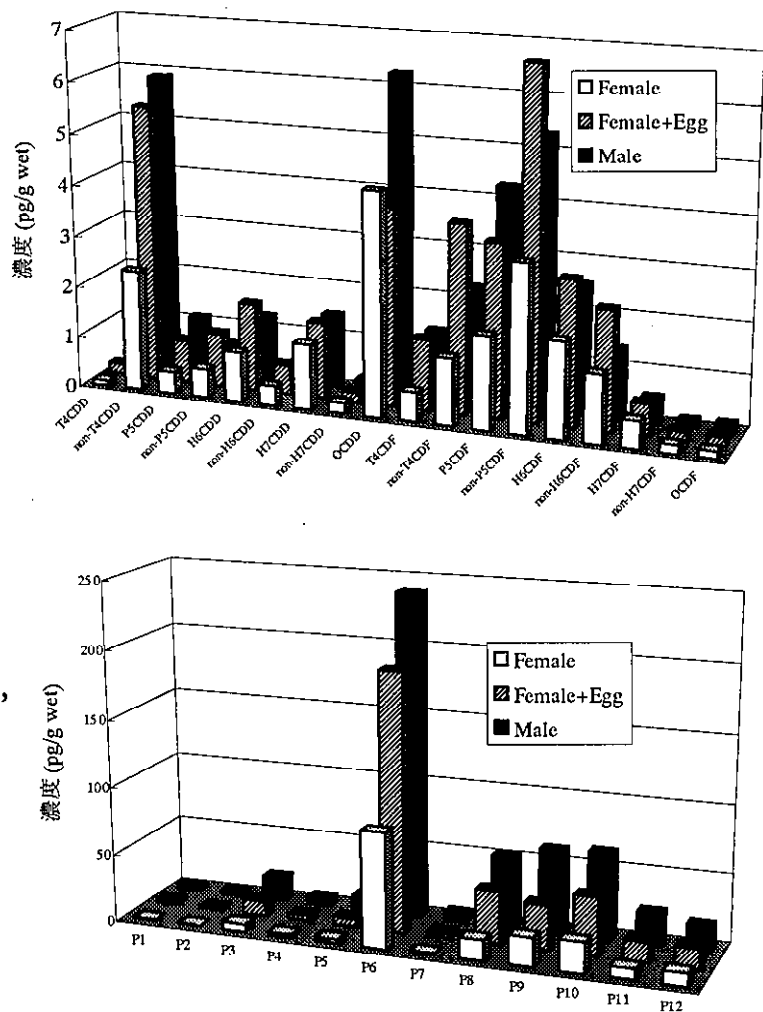


図4 ダイオキシン類濃度の性差
注) 略号は図2参照

nigromaculata)の年間を通しての生殖器官等の重量及びその脂肪分を調査した結果では、オスメス共に8～9月に体内脂肪分が最大となり(メス 5.2%, オス 4.3%), その後メスでは主に卵の形成と越冬時のエネルギーに、オスでは越冬時のエネルギーに脂肪が消費され、繁殖期では体内(卵を除く)の脂肪分は共に1%になることが報告されている³⁶⁾。また、繁殖期のメスでは、卵を含む全体の脂肪分は2.6%であり、卵は74%を占めている。今回調査した2種はトノサマガエルの近縁種であり、繁殖期での脂肪分は、オスメス共に報告されている脂肪分と同一の1%であった。さらに卵が占める脂肪分の比率も74%と全く同一であった。

今回行った繁殖期の調査では、卵を含めたメスとオスのダイオキシン類濃度はほぼ同一であったため、有機塩素系化学物質の代謝能に性差がないと仮定すると、夏季においてもオスメスの体内濃度は同一となる。一方、繁殖期のオスの体内濃度は明らかにメスに比べて高いため、繁殖期終了後から夏季にかけてメスがオスに比べ多量のダイオキシン類を摂取して夏季に同一の体内濃度に達すると考えられる。この理由としては、表2に示したように体重の約半分を占める卵を作るために、メスがオスに比べ多量の餌を取るによるものであろう。これは、夏季においてメスのトノサマガエルの脂肪分がオスに比べて高いことから裏付けられる。

4. 4 母体から卵への移行

4. 4. 1 PCB 及び有機塩素系農薬

卵生の生物では、母体中の疎水性物質は脂肪と共に卵に移行することが知られている^{37, 38)}。そこで、母ガエルから卵への対象化学物質の移行について検討した。

調査した2種のカエルの体内及び卵の脂肪分は、それぞれ1%と5%であり、卵の脂肪分の高さが卵の高濃度の原因と考えられた。そこで、母ガエルとその卵の脂肪換算濃度を比較することとし、両者から検出されたデータを用いて、母体から卵への化学物質の移行率を計算して表9にまとめた。卵と母体の濃度比は、脂肪換算で平均0.61であり、有機塩素系農薬やPCBが脂肪と共に卵へ移行していることが確認された。

次に、母体内の有機塩素系物質が、絶対量としてどの程度卵に移行しているか検討を行った。その結果を表10に示す。母体内に存在する化学物質の2倍(0.14～5.6倍)の量が卵から検出されており、カエルの場合は、体内に蓄積した有機塩素系物質の2/3が、1回の産卵により卵に移行することが確認された。

4. 2. 2 ダイオキシン類

疎水性化学物質が卵に蓄積するメカニズムは、フガシティーモデルと考えられている^{37, 38)}。この場合、脂肪換算濃度において卵/母体比が1となる。魚類を中心とした実際の生物では、95%が0.5～2.5の範囲に収まるが、1より有意に小さい例も報告されている³⁷⁾。数は少ないものの、両生類に関しても1より有意に小さい報告がある³⁷⁾。また、フガシティーモデルでは、卵中での化学物質の代謝はほとんどな

表9 PCB 及び有機塩素系農薬の母体と卵の脂肪換算濃度比(卵/母体)

物質名	n	平均	標準偏差
5 塩化ビフェニル	1	0.84	—
6 塩化ビフェニル	1	0.55	—
p,p'-DDT	5	0.38	0.221
p,p'-DDE	7	0.47	0.270
p,p'-DDD	1	0.56	—
デイトリル	1	1.1	—
ギシロゲン	1	0.39	—

注：親ガエル及び卵の両方から検出された物質のみで比較

表10 PCB 及び有機塩素系農薬の母体と卵の在量比(卵/カエル)

物質名	n	平均	標準偏差
5 塩化ビフェニル	1	2.05	-
6 塩化ビフェニル	1	1.33	-
p,p'-DDT	5	1.71	1.401
p,p'-DDE	7	2.01	1.840
p,p'-DDD	1	1.84	-
デイトリル	1	4.23	-
ギシロゲン	1	0.94	-

いとされている。

そこで、調査した全個体から検出されたダイオキシン類の結果を用いて母体から卵への化学物質の移行を検討した。その結果を図5に示す。

大半の4～5塩素化PCDD/DF及びCo-PCBの脂肪換算濃度の卵/母体比については、1と有意な差が認められず、フガシティーモデルに従って卵に移行したものと考えられた。しかし、6塩素以上のPCDD/DFでは、卵/母体濃度比が1より有意に小さかった。このことが、卵を除いたメスとオスとの性差が、低塩素のPCDD/DFのみで有意であった(4.3.2参照)ことの原因である。調査した2種のカエルは、体内に脂肪体を持っており、卵の生産には主にその脂肪体を利用しているため、高塩素化体が1より小さい理由は脂肪体から卵への移動を阻害する原因があることによると考えられる。

そこで、オクタノール-水分配係数が得られた物質に関して、脂肪換算濃度の卵/母体比を求めた。その結果を図6に示す。化学物質のオクタノール-水分配係数と卵/母体濃度比との関係を調べた報告では、関係が認められないという報告と分配係数が大きくなるにつれ濃度比が低下するという報告があるが、図6からは明らかにオクタノール-水分配係数が大きな物質ほど卵に移行しにくくなることが確認された。そのため、フガシティーモデルからのずれは、オクタノール-水分配係数に関連する要因によると見なされた。PCDD/DFの体内への移行に関しては、分子サイズが大きい高塩素化体ほど取り込みにくくなることが報告されている³³⁾ため、高塩素化体ほど母体から卵へ

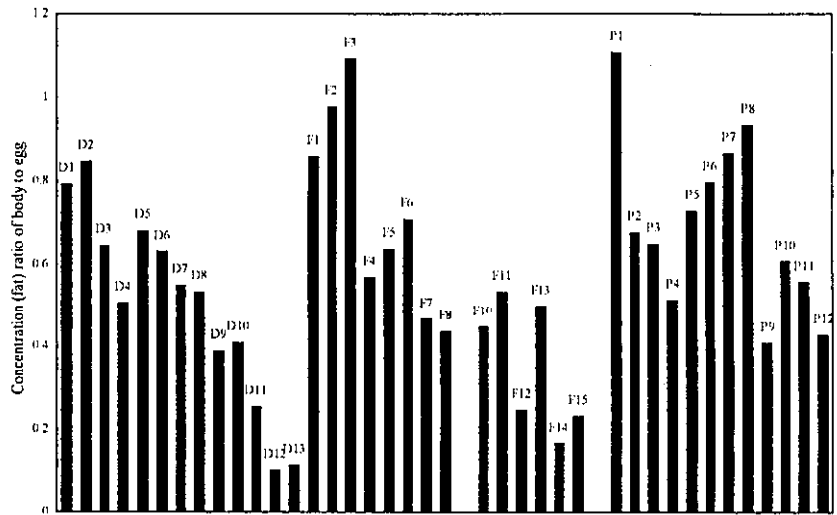


図5 卵と体内のダイオキシン類の脂肪換算濃度比 (卵/母体)
注) 略号は図2参照

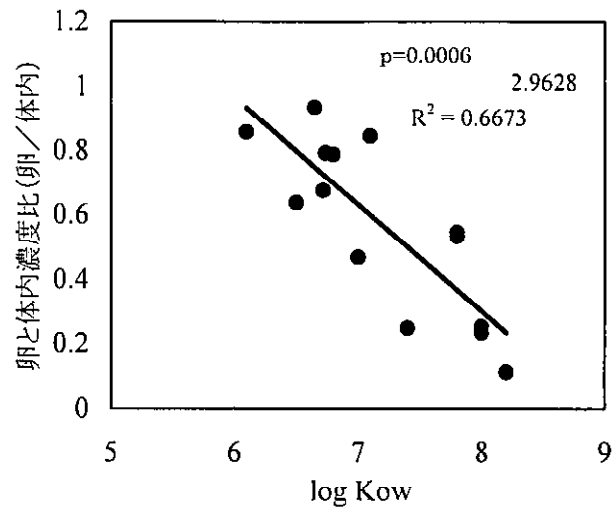


図6 オクタノール-水分配係数と母体と卵の濃度比 (脂肪換算値)

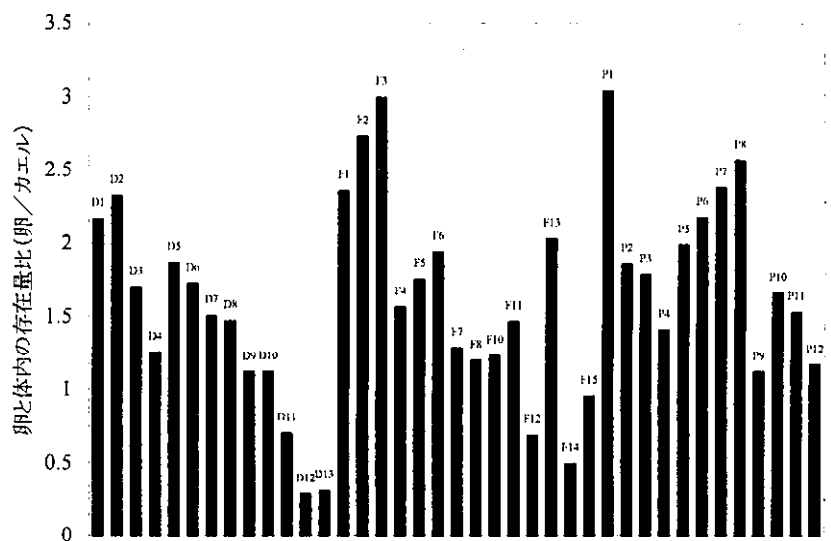


図7 卵と体内のダイオキシン類の絶対量比 (卵/母体)
注) 略号は図2参照

移行しにくくなる原因も分子の大きさによるものと推測された。

次に、卵中での化学物質の代謝であるが、土壌・カエル間で見られた 2,3,7,8 体の選択的濃縮が図 5 のように母体-卵間では認められないことから、卵中での代謝がないことが確認された。

母体と卵のダイオキシン類の絶対量比を図 7 に示すが、母体中のダイオキシン類の約 2 倍が卵から検出されており、DDT などと同様に体内蓄積量の 2/3 が卵に移行することが分かった。魚類においては、1 回しか産卵しない種では母体中の大半の化学物質が卵に移行するものの、毎年産卵する種では卵への移行率が小さいことが報告されている (37, 38)。一方、フガシティーモデルでは体内と卵の脂肪分が卵への化学物質の移行に関連していると考えられ、毎年産卵する対象の 2 種のカエルでも卵の脂肪分の高さ (母体 1%, 卵 5%) が、その化学物質濃度の高さの原因である。

4. 5 山田緑地内でのダイオキシン類の挙動

最も試料数の多い山田緑地の分析値を用いて、土壌・カエル・卵間のダイオキシン類の動態を検討した。その結果を図 8 に示す。図から 1 つの媒体を分析することでそれ以外の 3 種の濃度を予測することが可能である。

また、TEQ についてそれぞれの関係を求めたものを表 1 1 に示す。土壌の TEQ を 1 としたときのオスガエル及び卵の TEQ (湿重量換算) は、それぞれ 0.36 及び 0.75 であった。なお、卵の分析を行ったメスガエルの TEQ は、山田緑地の全メス (20 個体) の平均 TEQ の 1.39 倍であり、それを考慮すると全メスの卵塊の平均 TEQ は、土壌の 0.53 倍となる。即ち、カエル卵中のダイオキシン類の TEQ 濃度は、生息地の土壌濃度の約半分であることが分かった。現在の土壌環境基準は人の健康を保護する目的で設定されているため 1,000pg-TEQ/g であるが、土壌がこの基準を満足してもカエル及び卵塊中のダイオキシン類濃度は、最大 360 及び 530pg-TEQ/g wet となり、カエルを保護するには、現在の環境基準値では不十分な可能性がある。

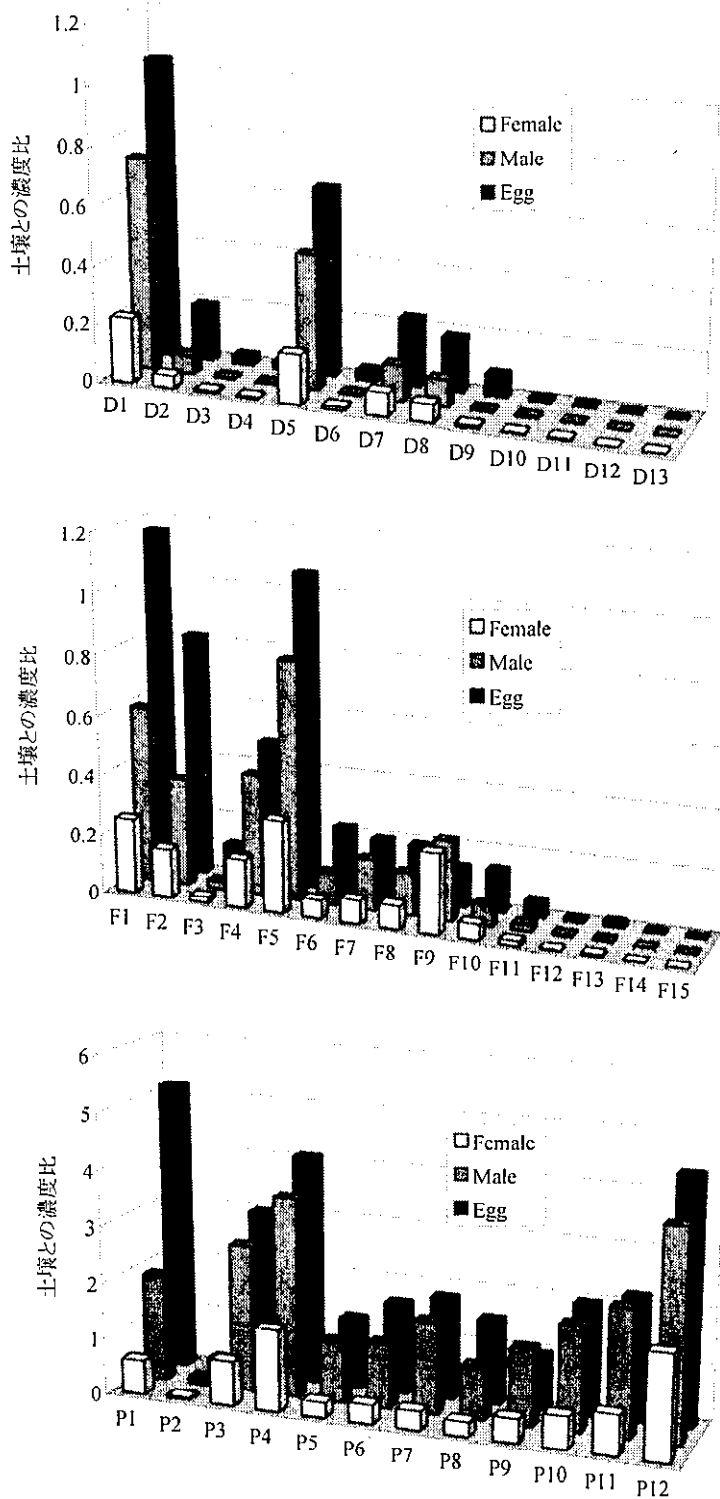


図 8 土壌に対するオス, メス, 卵の濃度比 (土壌濃度 dry を 1 とした時のそれぞれの wet 濃度) 注) 略号は図 2 参照

表 1 1 山田緑地内の各媒体中の TEQ 濃度比 (土壌濃度を 1 とした場合)

試料	PCDD/DF	Co-PCB	ダイオキシン類
土壌 (乾重量換算)	1	1	1
カエル(オス) (湿重量換算)	0.25	2.45	0.36
卵 (湿重量換算)	0.57	3.93	0.75

5 まとめ

ダイオキシン類を含む有機塩素系化学物質を対象に、カエルの生息環境、カエル及びその卵の調査を実施し、以下のことが明らかになった。

- 1) カエルの体内及び卵中の有機塩素系化学物質濃度は、その生息環境の影響を強く受けている。
- 2) 秋季から翌春の間に体内脂肪の大半が消費されるのに伴い、脂肪中の有機塩素系化学物質濃度は大きく上昇する。この時期はカエルが生理的に苦しい時であり、化学物質の影響を検討する必要がある。
- 3) ダイオキシン類では、PCDD/DF は Co-PCB に比べてカエルの体内に取り込まれにくい。
- 4) PCDD/DF では、毒性の強い 2378 体が選択的にカエルの体内に蓄積される。
- 5) 繁殖期のオスの有機塩素系化学物質濃度はメスより高く、その原因は卵への移行である。また、メスは繁殖期終了後から夏にかけて有機塩素系化学物質をオスより多く取り込み、夏季にはオスメスの体内濃度 (湿重量) はほぼ同一になる。
- 6) メスの体内に存在する有機塩素系化学物質の 2/3 が卵に移行する。
- 7) カエルから卵への移行はフガシティーモデルに従い、母体と卵の肪換算濃度比は 1 に近くなるが、ダイオキシン類ではオクタノールー水分配係数が大きい物質ほど卵に移行しにくくなる。
- 8) 土壌濃度 (乾燥重量) を 1 とした時のオス及び卵の PCDD/DF の TEQ 濃度 (湿重量) はそれぞれ 0.25 と 0.57 であり、Co-PCB では 2.45 と 3.93 である。この関係を利用することにより、1 種類の試料を分析することにより他の 2 種の濃度を予測することが可能である。

謝辞

本研究は、「北九州市における外因性内分泌攪乱化学物質の野生生物に与える影響に関する検討委員会」及び環境庁の「内分泌攪乱化学物質による野生生物影響実態調査」の資金を用いて実施したものである。記して感謝する。

文献

1. D. B. Wake. (1991) Declining amphibian populations, *Science*, 253, 860.
2. M. Barinaga. (1990) Where have all the froggies gone? *Science*, 247, 1033-1034.
3. J. Pelley. (1998) No simple answer to resent amphibian declines, *Environ. Sci. Technol.* 32, 352A.
4. B. Hileman. (1998) *C&EN*, Jun 15, 20.
5. D. W. Sparling, et al. (2001) Pesticides and Amphibian Population Declines in California, USA, *Environ. Toxicol. Chem.*, 20, 1591-1595.
6. J. M. Kiesecker. (2002) Synergism between trematode infection and pesticide exposure: A link to amphibian limb deformities in nature? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99.
7. 門上希和夫 他. (2000) 過剰肢カエル発生地におけるカエル及び環境中の内分泌攪乱化学物質調査, *環境化学*, 10, 35-43.
8. K Kadokami, et al. (2002) Congener-specific analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and coplanar polychlorinated biphenyls in frogs and their habitats, Kitakyushu, Japan, *Environ Toxicol Chem*, 21, 129-137.
9. 開館 10 周年記念出版物編集委員会編, (1992) 山田緑地の自然, 北九州市立自然史博物館.

10. 環境庁水質保全局水質管理課. (1998) 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル (水質, 底質, 水生生物), 東京.
11. 環境庁水質保全局土壌農薬課. (1998) ダイオキシン類に係る土壌調査暫定マニュアル, 東京.
12. 環境庁水質保全局水質管理課. (1998) ダイオキシン類に係る水生生物調査暫定マニュアル.
13. 前田憲男, 松井正文. (1989) 日本カエル図鑑, 文一総合出版, 東京.
14. 門上希和夫, 武石全慈. (1998) 過剰肢カエル発生地における化学物質調査, 第7回環境化学討論会講演要旨集, 76-77.
15. R. W. Russell, et al. (1997) Polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides in southern Ontario, Canada, green frogs, *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 2258-2263.
16. R. W. Russell, et al. (1995) Organochlorine pesticide residues in southern Ontario spring peepers, *Environ. Toxicol. Chem.*, **14**, 815-817.
17. C. Rico, et al. (1987) Organochlorine and metal pollution in aquatic organisms sampled in the Donana National Park during the period 1983-1986, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **39**, 1076-1083.
18. A. D. Gendron, et al. (1997) In vivo testing of the functional integrity of the corticosterone-progesterone axis in mudpuppy (Amphibia) exposed to chlorinated hydrocarbons in the wild, *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 1694-1706.
19. J. Bonin, et al. (1995) Comparative study of contaminants in the mudpuppy (Amphibia) and the common snapping turtle (Reptilia), St. Lawrence River, Canada, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **28**, 184-194.
20. R. J. Hall, et al. (1985) Pesticide and PCB residues in the Neuse River waterdog, *Necturus lewisi, Brimleyana*, **10**, 107-109.
21. D. W. Sparling. (2000) Ecotoxicology of organic contaminants to amphibians, 461-494, "Ecotoxicology of amphibians and reptiles", Edited by D. W. Sparling et al., SETAC Press, Pensacola, FL.
22. "The Pesticide Manual 11th. ed.", Edited by C. D. S. Tomlin, (1997) British Crop Protection Council, Surrey UK.
23. 環境庁環境保健部環境安全課. (1998) 平成10年版化学物質と環境, 東京, 109-144.
24. M. Kawano, et al. (1988) Bioconcentration and residue patterns of Chlordane compounds in marine animals: invertebrates, fish, mammals, and seabirds, *Environ. Sci. Technol.*, **22**, 792-797.
25. 環境庁. (1999) ダイオキシン類緊急全国一斉調査結果について.
26. S. Masunaga and J. Nakanishi. (1999) Dioxin impurities in old Japanese agrochemical formulations. *Organohalogen Compounds*, **41**, 41-44.
27. I. Ogura. (1999) Flux and characteristics of atmospheric PCDD/DF deposition in the Kanto region, Proceedings of the 2nd international workshop on risk evaluation and management of chemicals, 53-61.
28. Y. W. Huang, et al. (1999) Exposure of Northern Leopard Frogs in the Green Bay ecosystem to polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo *p*-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans is measured by direct chemistry but not hepatic ethoxyresorufin-*O*-deethylase activity. *Environ Toxicol Chem*, **18**, 2123-2130.
29. K. Takayama, et al. (1991) PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs in coastal and marketing fishes in Japan. *Eisei Kagaku*, **37**, 125-131.
30. A. L. Reeder, et al. (1998) Forms and prevalence of intersexuality and effects of environmental contaminants on sexuality in Cricket Frogs (*Acris crepitans*), *Environ Health Perspect*, **106**, 261-266.

31. M. S. Johnson. (1999) Bioaccumulation of 2,4,6-trinitrotoluene and polychlorinated biphenyls through two routes of exposure in a terrestrial amphibian: Is the dermal route significant? *Environ. Toxicol. and Chem.*, **18**, 873-878.
32. D. C. G. Muir, et al. (1985) Bioconcentration of PCDDs by fish, effects of molecular structure and water chemistry. *Chemosphere*, **14**, 829-833.
33. A. Opperhuizen and D. T. H. M. Sijm. (1990) Bioaccumulation and biotransformation of polychlorinated dibenzo-p-dioxina and dibenzofurans in fish. *Environ Toxicol Chem*, **9**, 175-186.
34. Y. C. Ling, et al. (1995) PCDD/DFs and coplanar PCBs in sediment and fish samples from the Er-Jen River in Taiwan. *Chemosphere*, **31**, 2863-2872.
35. H. Loonen, et al. (1994) Effect of sediment on the bioaccumulation of a complex mixture of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) by fish. *Chemospher*, **28**, 1433-1446.
36. K. Maruyama. (1979) Seasonal cycles in organ weight and lipid levels of the frog, *Rana nigromaculata*. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, **52**, 18-27.
37. R. W. Russell, et al. (1999) Maternal transfer and in ovo exposure of organochlorines in oviparous organisms: a model and field verification, *Environ Sci Technol*, **33**, 416-420.
38. K. Kleinow, et al. (1999) Exposure, uptake, and disposition of chemicals in reproduction and developmental stage of selected oviparous vertebrates, 9-111, "Reproductive and developmental effects of contaminants in oviparous vertebrates", Edited by R. T. Di Giulio and D. E. Tillitt, SETAC Press, Pensacola, FL.

両生類生態系における有機塩素系化学物質の動態

門上希和夫, 武石全慈 (北九州市自然史博)

倉本満, 小野勇一 (北九州市環境ホルモン委)

第29回環境保全公害防止研究発表会 (宮崎市)

平成15年1月

1 はじめに

1995年6月に福岡県北九州市小倉北区山田町の山田緑地において、過剰前肢を持つヤマアカガエル(*Rana ornativentris*)が発見されて以来、毎年緑地内で過剰肢ガエルが出現している。本調査は、過剰肢ガエルの発生原因調査の一環として、カエルの生息環境、カエル及びその卵中のダイオキシン類を調査し、両生類におけるダイオキシン類の暴露実態と動態を解明することを目的として実施したものである。

2 調査地域及び試料の採取

1998年1月から2月にかけて山田緑地及び対照地2地域(森林地帯及び田園地帯)において、土壌及び2種のカエル(ヤマアカガエル及びニホンアカガエル(*R. japonica*))を採取・捕獲した。なお、この時期はカエルの繁殖期であり、捕獲したカエルは全て成体で、メスは卵を持っていた。

3 分析法

土壌試料は「ダイオキシン類に係る土壌調査暫定マニュアル」に、カエル及び卵(卵塊)は「ダイオキシン類に係る水生生物調査暫定マニュアル」に従ってそれぞれ分析を行った。

4 調査結果及び考察

(1) 土壌の濃度

3地域の土壌中のダイオキシン類濃度を表1に示す。山田緑地の濃度は、2.5~175.4pg-TEQ/g dryであり、幾何平均値は16.0pg-TEQ/g dryであった。また、濃度は対数正規分布していた。一方、郊外の森林地帯に位置する対照地1の濃度は1.25pg-TEQ/g dryと低く、水田地帯の対照地2からは比較的高濃度の10.2pg-TEQ/g dryが検出された。なお、毒性等価係数(TEF)は、WHO(1998年)の人/ほ乳類用TEFを用い、検出限界未満は検出限界の1/2としてTEQを計算した。

表1 土壌中のダイオキシン類濃度 (pg-TEQ/g dry)

項目	山田緑地 (n=15)	対照1 (n=2)	対照2 (n=2)
PCDD	7.86	0.51	6.09
PCDF	6.21	0.63	3.46
Co-PCB	0.87	0.11	0.30
Total TEQ	16.0	1.25	10.2
Volatile solids (%)	12.5	4.94	8.31

PCDD/DFの異性体構成比(図1参照)を検討すると、山田緑地及び対照地1のPCDD/DFは東京の土壌の構成比と近似しており、燃焼由来と推定された。一方、対照地2では1,3,6,8-及び1,3,7,9-T4CDDが比較的に高濃度で検出されている事から、除草剤であるクロロニトロフェンの寄与が大きいと推定された。Co-PCBに関して3地域19地点間での組成比の相関を計算した結果、相関係数の平均は0.975と非常に高かった。この高い相関及び比較的低い検出濃度から、3地域のPCB汚染は通常的环境と同レベルと推定された。

(2) カエルの濃度

山田緑地及び対照2地域のカエルのダイオキシン類濃度を表2に示すが、同一種のカエルではTEQに大きな差は見られなかった。山田緑地のカエルの

表2 カエルのダイオキシン類濃度

項目	ヤマアカガエル				ニホンアカガエル			
	オス		メス		オス		メス	
	山田 n=10	対照1 n=11	山田 n=10	対照1 n=9	山田 n=10	対照2 n=10	山田 n=10	対照2 n=10
TEQ (pg/g wet)	5.50	5.13	2.88	2.59	6.19	4.99	1.62	1.91
脂肪分 (%)	1.04	1.42	1.07	1.24	1.20	0.88	0.83	0.83
TEQ (pg/g fat)	530	360	269	209	517	570	196	230

PCDD/DFのTEQは、水生生物の全国平均の約3.7倍であった。この高TEQは土壌の濃度を反映したものと考えられる。

3地域でのカエルのPCDD/PCDF比は、山田緑地のヤマアカガエルが0.65、ニホンアカガエルが0.70、対照地1が0.74と1以下であったが、対照地2では4.1であった。このように対照地2においてカエルのPCDD/PCDF比が高いのは、対照地2の土壌の高PCDD/PCDF比(15.2)を反映しているためである。この結果からも、カエル体内のPCDD及びPCDF濃度は、生息地の状況をよく反映していると言える。

Co-PCBではNon-ortho Co-PCBの構成比が、魚(3,3',4,4'-T4CB > 3,3',4,4',5'-P5CB > 3,3',4,4',5,5'-H6CB)よりも人間の脂肪内(3,3',4,4',5'-P5CB > 3,3',4,4',5,5'-H6CB > 3,3',4,4'-T4CB)のものと良く似ていた。カエル中のCo-PCBのTEQ

が、総ダイオキシン類TEQに占める比率は35%前後で、水生生物の70%の半分程度であった。多くの陸上動物では総ダイオキシン類のTEQに占めるCo-PCBの比率が低いことが報告されており、本調査でも同様の傾向が見られた。

(3) カエルの性、種及び体重(体長)による濃度差

山田緑地の2種類のカエルの同一性間ではPCDD/DF及びCo-PCBの脂肪換算濃度に差は見られなかった。一方、オスとメス間で脂肪換算濃度を比較した結果、図2に示すようにオスがメスに比べて有意に(PCDF(p<0.001), PCDD/DF(p<0.01)及びCo-PCB(p<0.001))高濃度であることが確認された。

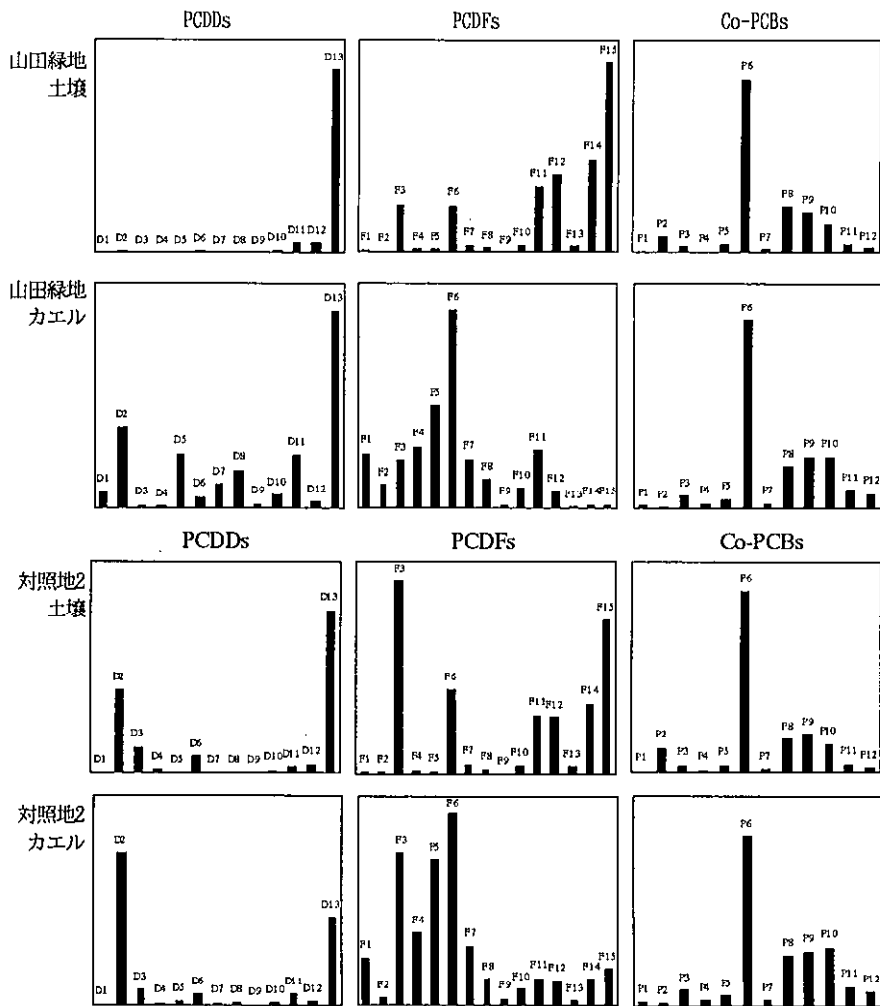


図1 山田緑地及び対照地2のPCDD/PCDF及びCo-PCBの異性体構成比
 コンジェナー濃度は幾何平均である。土壌はdryベース、カエルは脂肪ベースで算出。
 D1, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (T4CDD); D2, 1,3,6,8-T4CDD; D3, 1,3,7,9-T4CDD;
 D4, Other T4CDDs; D5, 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzo-p-dioxin (P5CDD); D6, Other P5CDDs;
 D7, 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzo-p-dioxin (H6CDD); D8, 1,2,3,6,7,8-H6CDD;
 D9, 1,2,3,7,8,9-H6CDD; D10, Other H6CDDs; D11, 1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodibenzo-p-dioxin (H7CDD); D12,
 Other H7CDD; D13, octachlorodibenzo-p-dioxin;
 F1, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (T4CDF); F2, 1,3,6,8-T4CDF; F3, Other T4CDFs;
 F4, 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzofuran(P5CDF); F5, 2,3,4,7,8-P5CDF; F6, Other P5CDFs;
 F7, 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran(H6CDF); F8, 1,2,3,6,7,8-H6CDF; F9, 1,2,3,7,8,9-H6CDF; F10,
 2,3,4,6,7,8-H6CDF; F11, Other H6CDFs; F12, 1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodibenzofuran(H7CDF); F13,
 1,2,3,4,7,8,9-H7CDF; F14, Other H7CDFs; F15, octachlorodibenzofuran;
 P1, 3,4,4',5-tetrachlorobiphenyl (T4CB); P2, 3,3',4,4'-T4CB; P3, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (P5CB); P4,
 3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (H6CB); P5, 2',3,4,4',5-P5CB; P6, 2,3',4,4',5-P5CB;
 P7, 2,3,4,4',5-P5CB; P8, 2,3,3',4,4'-P5CB; P9, 2,3',4,4',5,5'-H6CB; P10, 2,3,3',4,4',5-H6CB;
 P11, 2,3,3',4,4',5'-H6CB; P12, 2,3,3',4,4',5,5'-heptachlorobiphenylである。

(4) 土壌とカエル間での濃度の関係

ダイオキシン類の生物濃縮については、塩素数やその置換パターンにより異なることが知られている。陸上の両生類では疎水性化学物質は主に経口経路で体内に蓄積されるため、土壌中のダイオキシン類がカエルの体内濃度に直接影響を与える可能性は少ない。しかし、カエルの栄養段階は低く、対象2種は共に昆虫、その幼虫、ミミズやナメクジ等を餌としているため、土壌中のダイオキシン類は間接的ではあるがカエルの体内濃度に強く影響を与えていると考えられる。このことは、カエルと土壌の異性体構成比が類似していることから裏付けられる(図1参照)。

カエルにおける PCDD/DF 及び Co-PCB の摂取と排泄を明らかにするために、山田緑地の土壌とオスガエルのダイオキシン類の濃度比を検討した。その結果、次の3点が明らかとなった。第一に、PCDD/DF の生物濃縮率は、Co-PCB よりもかなり低いことが確認された。カエル中の Co-PCB 濃度(脂肪換算)は、土壌(3,3',4,4'-T4CB は除く)に比べて 85~330 倍あったが、低塩素の 2,3,7,8-PCDD/DF 濃度は土壌に対し 70 倍以下であった。PCDD/DF の濃縮率が低い理由としては、PCB に比べて生分解が速いこと、他の水生生物で報告されているように PCDD/DF の吸収効率が低いためと考えられる。これらの結果から、カエルにおける PCDD/DF の生物濃縮率は、PCB 等の疎水性の塩素化芳香族炭化水素よりもかなり低い事が確認された。第二に、PCDD/DF の生物濃縮率は、塩素数が増すにつれて減少することが分かった。これは高塩素化体ほど分子が大きくなり膜を通過しにくくなるためである。一方、Co-PCB では、塩素数に比例して生物濃縮率が大きくなり、さらに塩素の置換位置が生物濃縮に強く関与していることが分かった。例えば、3,3',4,4'-P4CB では、土壌に対するカエルの脂肪換算濃度は 10 倍以下であり、他の Co-PCB に比べてもかなり低かった。3,3',4,4'-P4CB については、魚においても生物濃縮率が低い事が報告されており、3,3',4,4'-P4CB は代謝されやすいことが認められた。第三に、他の水生生物と同様に、カエルにおいても、2,3,7,8-体の生物濃縮率が、非 2,3,7,8-体と比べて非常に大きいことが認められた。2,3,7,8-体は、非 2,3,7,8-体と比べて代謝を受けにくく体内残留性が高いためである。しかし例外もあり、1,3,6,8-T4CDF の生物濃縮率は、2,3,7,8-T4CDF とほぼ同じであった。以上から、カエルにおいても PCDD/DF の 2,3,7,8-体が、選択的に体内に濃縮されると結論できる。この 2,3,7,8-体の選択的濃縮は、カエルにとっては大きな問題になると思われる。なぜならば、PCDD/DF では、2,3,7,8 体だけが毒性のある化合物として分類されるからである。カエルの PCDD/DF 濃度(湿重量換算)は、土壌の 0.5%しか占めていないが、カエルの TEQ 値は土壌に対して 36%に達する。

(5) 母体から卵への移行

分析した卵塊の母ガエルからは、湿重量換算で PCDD/DF が平均 54pg/g wet, Co-PCB が平均 242pg/g wet, 総ダイオキシン類が平均 296pg/g wet 検出されている。また、それらの平均脂肪換算濃度は、PCDD/DF が約 5,330pg/g fat, Co-PCB が約 21,500pg/g fat, 総ダイオキシン類が約 26,900pg/g fat である。一方、卵からは、湿重量換算で PCDD/DF が平均 158pg/g wet, Co-PCB が平均 952pg/g wet, 総ダイオキシン類が、平均 1,110pg/g wet 検出されており、母体の約 3.8 倍であった。また、卵の平均脂肪換算濃度は、PCDD/DF が約 2,830pg/g fat, Co-PCB が約 17,000pg/g fat, 総ダイオキシン類が約 19,900 pg/g fat であり、母体の約 70%であった。母体と卵の TEQ 値を比較したところ、湿重量換算濃度と同様に卵の TEQ 値は母体より 3.8 倍大

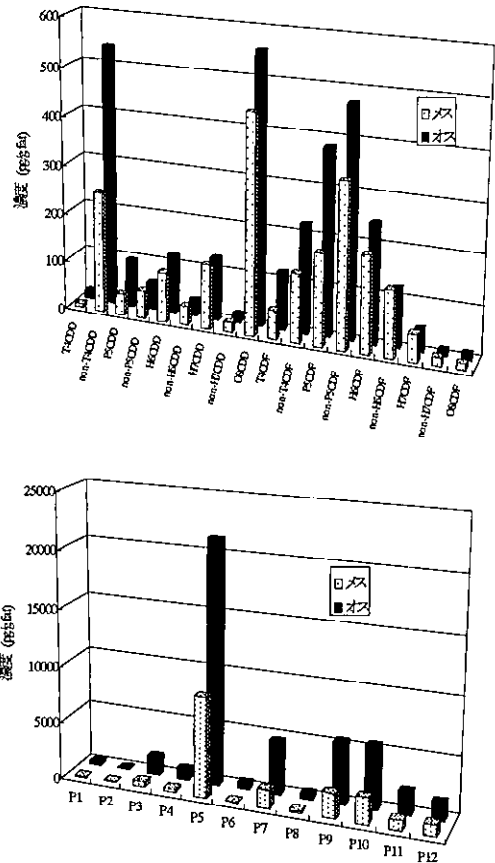


図2 ダイオキシン類濃度の性差
注) 略号は図1参照

きかった。

このことから、土壌からカエルへの移行で見られた2,3,7,8-体の選択的な濃縮は、母体-卵間では見られないことが確認された。次に、母体から卵へのダイオキシン類の絶対量の移行率を求めるところ、母体中のダイオキシン類の約2.5倍が卵から検出されており、体内蓄積量の2/3が卵に移行することが確認された。さらに、個々のコンジェナーで移行に差があり、図4に示すようにOCDDなど高塩素化体ほど卵へ移行しにくいことが分かった。PCDD/DFの体内への移行に関しては、高塩素化体ほど取り込みにくくなることが多数報告されており、同様な傾向が母体から卵への移行に関しても確認された。

最も試料数の多い山田緑地の試料を用いて、土壌・カエル・卵間のダイオキシン類の動態を検討した。その結果を表3に示すが、土壌のTEQを1としたときのオスガエル及び卵のTEQ（湿重量換算）は、それぞれ0.36及び0.75であった。なお、調査卵塊の母体のTEQは、山田緑地の全メス（20個体）の平均TEQの1.39倍であり、それを考慮すると全メスの卵塊の平均TEQは、土壌の0.53倍となる。即ち、カエル卵中のダイオキシン類のTEQ濃度は、生息地の土壌濃度の約半分であることが分かった。現在の土壌環境基準は1,000pg-TEQ/gであるが、土壌がこの基準を満足してもカエル及び卵塊中のダイオキシン類濃度は、最大360及び530pg-TEQ/g wet

(36,000及び10,600pg-TEQ/g fat)となり、カエルを保護するには、現在の環境基準値では不十分な可能性がある。

表3 土壌、カエル及び卵のTEQ比

試料	PCDD/DF	Co-PCB	ダイオキシン類
土壌(乾重量換算)	1	1	1
カエル(オス)(湿重量換算)	0.25	2.45	0.36
卵(湿重量換算)	0.57	3.93	0.75

謝辞：本研究は、環境庁の協力を得て実施したものである。記して感謝する。

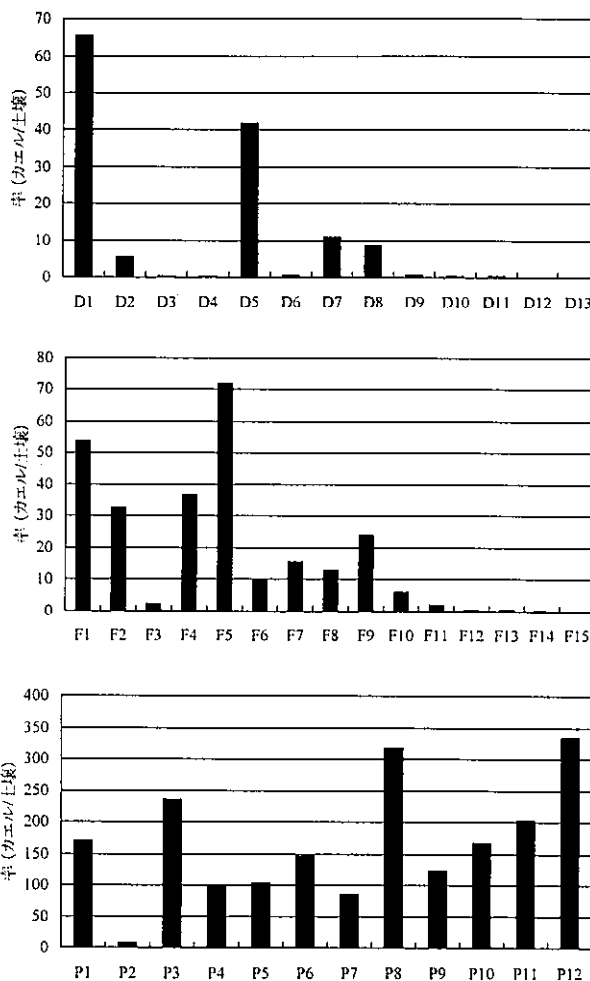


図3 オスガエルと土壌のダイオキシン濃度比
注) 略号は図1参照

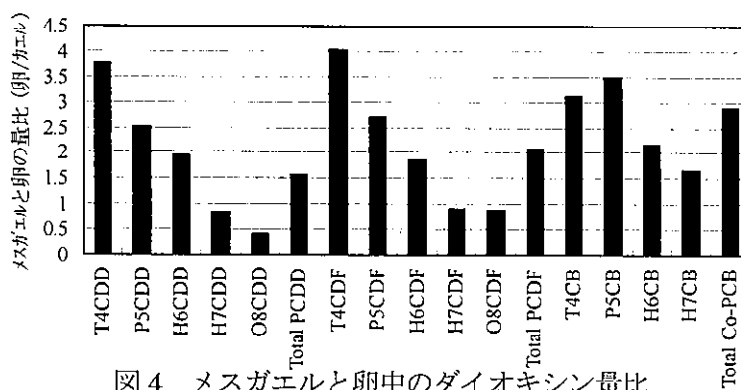


図4 メスガエルと卵中のダイオキシン量比

山田緑地土壌におけるトリニトロトルエン生分解微生物のスクリーニング

前田憲成、梁 明、大住幸秀、草野好司、尾川博昭（九州工業大学大学院）

門上希和夫

第37回日本水環境学会年会（熊本市）

平成15年3月

1 はじめに

山田緑地において1995年に発見されて以来、毎年出現している前肢過剰ヤマアカガエルは、交配実験の結果よりその形態が子孫に遺伝するということが明らかにされた。同地ではトリニトロトルエン（TNT）が特徴的に検出されていることから、この化学物質や変換産物などがカエルの過剰肢の原因となる遺伝子に影響を与えた物質として疑われている。本研究では、山田緑地のTNT検出土壌を対象にTNTを生分解する微生物のスクリーニングを行い、分離した細菌によるTNT変換経路の解明を通じて、過剰肢の引き金となった可能性のある化学物質について検討すること、また遺伝影響物質の疑いのあるTNTあるいはその変換産物の高効率な環境浄化法を確立することを目的とする。

2 実験方法

2-1. スクリーニングおよび細菌の同定

TNT検出土壌（湿重量20g）をTNT（100mg/L）と酢酸（10mM）を炭素源・窒素源としたM8最少培地（100ml）に添加し、30°Cで1週間培養した。そして、連続希釈した液を同様のM8最少寒天培地に塗布して培養し、生育したコロニーを分離した。単離した細菌は生化学的性状テストおよび16Sリボソーム遺伝子相同性解析を行った。

2-2. TNT変換産物の同定

TNT溶液（100mg/L）に菌体を添加し、30°Cで振とう培養した。各時100mlずつサンプリングを行い、遠心分離（5,000×g、10分間）後、上清に塩化ナトリウム（5%）を添加してジエチルエーテルで3回抽出（pH7.0）し、無水硫酸ナトリウムによって乾燥、エバポレーターで濃縮後、GC/MS分析を行った。

3 結果

3-1. TNT変換微生物の動態

スクリーニングによって分離したすべての細菌はブドウ糖非発酵性、グラム陰性の桿菌であることが判明した。TNT検出土壌から特徴的に分離した2つの細菌は16Sリボソーム遺伝子相同性解析の結果、*Pseudomonas oleovorans*と*Sphingomonas paucimobilis*に相同性の高い菌株であることがわかった。これらをそれぞれ*Pseudomonas* sp. TM15、*Sphingomonas* sp. TM22と命名した（図1）。

3-2. TNT変換経路の解明

分離した*Pseudomonas* sp. TM15および*Sphingomonas* sp. TM22の菌株を用いて、TNT変換産物の同定を行ったところ、TNTの一つのニトロ基が還元したモノアミノジニトロトルエン（2-アミノ4,6-ジニトロトルエンおよび4-アミノ2,6-ジニトロトルエン）を同定した（図2）。

4 考察 分離した細菌はTNT検出土壌のみに特異的に検出された（表1・図1）。これらの細菌によって産出されるモノアミノジニトロトルエンはTNTよりも高い遺伝毒性を有するために過剰肢を誘発した化学物質である可能性が考えられる。

5 結論 山田緑地のTNT検出土壌から高効率にTNTを変換する*Pseudomonas* sp. TM15と*Sphingomonas* sp. TM22の菌株を分離・同定した。これらの菌株を用いて、TNT変換産物の同定を行った結果、2つのモノアミノジニトロトルエン体を同定した。

参考文献 1) Duque *et al.*, *J. Bacteriol.*, 175, 2278-2283 (1993)

表1. TNT生分解細菌の動態

土壌名	<i>Ps.</i> sp. TM15	<i>Sphi.</i> sp. TM22
A*	○	○
B*	○	○
C*	○	○
D#	×	×

*: TNT検出土壌 #: TNT未検出土壌

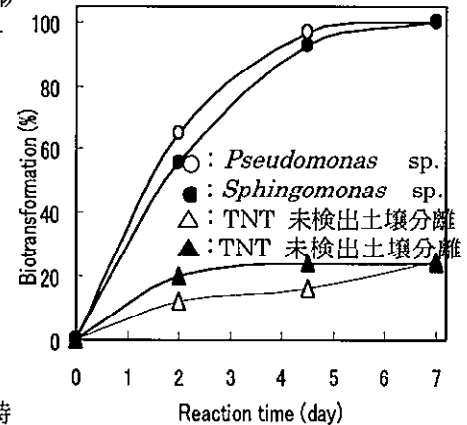


図1. 分離した細菌のTNT変換能

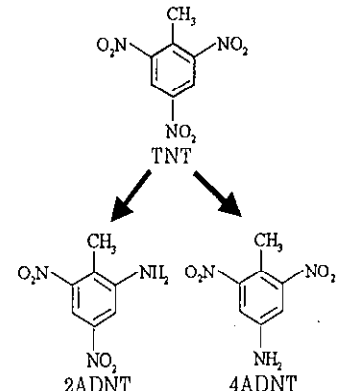


図2. 分離した細菌によるTNT変換経路

北九州市の旧弾薬庫跡地における環境安全性評価

棚田 京子, 門上希和夫, 江口征夫, 鈴木學 (北九州市環科研)

第 28 回九州衛生環境技術協議会水質分科会 (宮崎市)

平成 14 年 10 月

1 はじめに

本市の自然公園である山田緑地では、1995 年以来毎年 1~2% の発生率で、前肢過剰のヤマアカガエルが出現している。この地域は 1934 年から旧日本軍が、戦後は 1972 年まで米軍が弾薬庫として使用していた土地であることから、本市では委員会を設置し、環境汚染と遺伝の両面から原因究明調査を進めてきた。一連の環境調査では、放射線や水質、土壌 (底質) 中の化学物質、金属、ダイオキシン類等が調査され、さらに 1999 年には、環境省の「内分泌攪乱化学物質による野生生物影響実態調査」の一部として、緑地内 15 地点の水質、土壌 (底質) 及びカエル中の内分泌攪乱化学物質とダイオキシン類の調査が行われた。これらの調査では土壌から DDT 類や多環芳香族炭化水素が比較的高濃度で、またダイオキシン類も全国平均の 6.5 倍の濃度で検出された。さらに爆薬のトリニトロトルエン (TNT) も検出された。一方、遺伝的観点からは過剰肢カエルの交配試験、検出化学物質のカエル卵暴露試験や FETAX 試験、遺伝毒性試験等が行われた。これらの結果、過剰肢カエルの発生は遺伝的要因であるとの結論がなされた。本報告では、2001 年に行った土壌中の金属や TNT とその分解物調査及び発光 umu 試験法による遺伝毒性試験の結果を報告する。

2 調査項目及び分析方法

2.1 金属

試料は 1999 年 2 月の環境省調査地点を含む山田緑地内 16 地点及び対照地域 4 地点で採取した。分析項目は、Al、Ti、V、Cr、Mn、Ni、Co、Cu、Zn、Cd、Pb、Fe、As、Se、Sb、Hg の 16 元素であり、分析方法は、試料を酸で湿式分解後、Mn、Fe はフレイム原子吸光法で、As、Se、Sb は水素化物発生原子吸光法で、Hg は還元気化一無鉛原子吸光法で、またその他の元素は ICP-MS でそれぞれ測定した。

2.2 TNT とその分解物

試料は 2001 年 10 月に環境省調査と概ね同じ 15 地点で採取した。分析は試料 40 g (wet) にサロゲートとして、2,4-ジニトロトルエン-d₃ を添加し、アセトンで抽出後、5% 食塩水を加えてジクロロメタンで再抽出した。脱水濃縮後、5% シリカゲルに吸着させ、20% トルエン-ヘキサンで洗浄後トルエンで溶出させた。1ml に定容後 GC/MS を用い、TNT 及びその分解物の、4-アミノ-2,6-ジニトロトルエン (4A26DNT) と 2-アミノ-4,6-ジニトロトルエン (2A46DNT) を測定した。

2.3 遺伝毒性試験

試料は 2.2 と同一試料を用いた。試料の調製はジクロロメタン抽出までは TNT 類測定試料と同様に行い、その後還元銅で脱硫し溶媒留去した。調製した試料は -40℃ で保存し、測定時に DMSO に溶解して試験に供した。遺伝毒性の測定には、従来の umu 試験法の変法である発光 umu 試験法を採用し、サルモネラ菌 TA1535/pTL210 を用いて DNA 損傷時にでる発光量を測定することで遺伝毒性を検出した。

3 結果及び考察

3.1 金属調査

金属の中には、ヒ素やカドミウム等催奇形性が報告されているものがある。そこで金属によるカエルの奇形への影響を調べるため、土壌中の金属濃度を測定し対照地域の濃度と比較した。その結果、銅、亜鉛、鉛等で一部対照地域に比べて高い濃度が検出されたが、いずれも通常の土壌濃度の範囲内であった。

3.2 TNTとその分解物調査

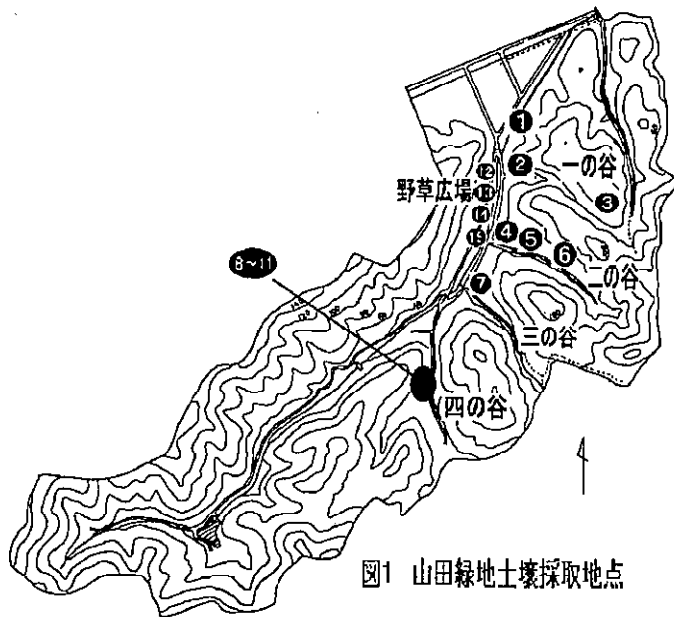


図1 山田緑地土壌採取地点

は今回も不検出であった。野草広場 (No.12~15) でも TNT が検出されたが四の谷に比べてその濃度は低いと思われた。今回新たに調査した二の谷

(No.4~6) では、比較的高濃度の TNT とその分解物が検出され TNT 類が残留していることがわかった。日本での TNT の検出例はないが、米国では数多く汚染が報告されており、EPA は飲料水中の暫定基準 (Health Advisory) を $2\mu\text{g/l}$ と発表している。TNT は土壌から水へ移動しにくく、また環境水からの揮発も非常に遅いため、今回の検出量は安全性に問題がない濃度と判断される。

3.3 遺伝毒性試験

過剰肢カエルの交配試験の結果、過剰肢が親から子へ遺伝することが確認された。そこで DNA 損傷を引き起こす遺伝毒性物質の存在の可能性をスクリーニングすることとした。まず、山田緑地に特徴的な物質として TNT と 2A46DNT 及び 4A26DNT について、発光 umu 試験法とエームズ試験とで遺伝毒性 (突然変異誘発能) 試験を行った結果、遺伝毒性があることが確認された。そこで土壌抽出液を発光 umu 試験し、遺伝毒性をスクリーニングするとともに TNT 濃度との関連性を調べた。発光 umu 試験で得られた有機炭素重量あたりの遺伝毒性比活性を表 2 に示す。表 1 の TNT 濃度と比較すると TNT 検出地点の比活性が高いとは言えず、TNT 濃度との関連性は見られなかった。また、緑地内各地点の比活性も No.3 (-S9) を除いて対照地点と同程度であり、遺伝毒性物質の存在の可能性は確認できなかった。

1997 年に行った化学物質調査で、5 地点の土壌から $9\sim 108\text{ng/g}\cdot\text{dry}$ の TNT が検出された。TNT は土壌中での残留性が強く発ガン性も指摘されている物質であるが、爆薬という用途の特殊性から通常的环境中では検出されない物質である。TNT は微生物の分解を受けて 2A46DNT や 4A26DNT となり、さらに 2,4-ジアミノ-6-ニトロトルエンへと変化することが知られている。そこで本調査では TNT の他に、2A46DNT 及び 4A26DNT を調査した。調査地点を図 1 に、また調査結果を表 1 に示す。

1997 年調査で TNT が検出された四の谷 (No.8~11) では、前回とほぼ同レベルで TNT が検出されており、この谷に TNT が残留していることが確認された。また、前回不検出であった三の谷 (No.7)

表1 TNTとその分解物濃度

No.	地点名	単位:ng/g·dry			
		TNT	2A46DNT	4A26DNT	TNT(1997年)
1		ND	ND	ND	
2	一の谷	ND	ND	ND	
3		ND	ND	ND	
4		41	25	28	
5	二の谷	72	48	39	
6		ND	ND	ND	
7	三の谷	ND	ND	ND	ND
8	四の谷	13	ND	ND	23
9		6.2	ND	ND	9
10		67	ND	ND	
11		120	ND	ND	110
12	野草広場	6.6	ND	-	
13		ND	ND	ND	
14		ND	ND	ND	ND
15		7.5	ND	5.5	18

表2 有機炭素重量あたりの遺伝毒性比活性
単位: $\times 10^4 \text{count/Cg}\cdot\text{dry}$

No.	地点名	単位: $\times 10^4 \text{count/Cg}\cdot\text{dry}$	
		+S9	-S9
1		76	
2	一の谷	170	
3		200	610
4	二の谷	170	
5		130	(22)
6		63	
7	三の谷	140	
8	四の谷	83	
9		120	
10		130	
11		120	
12	野草広場	110	(33)
13		210	
14		110	
15		270	
16	対照1	54	(96)
17	対照2	(3.4)	(90)

()は、溶媒対照 (DMSO) の 2 倍以上の発光量を示さなかった試料