

有用甲殻類 3 種の無酸素と硫化水素に対する耐性

姜 柱賛・松田 治

広島大学生物生産学部, 東広島市 724

1993年10月25日 受付

要 旨 底生性甲殻類のガザミ, ヨシエビ, テナガエビに対する硫化水素の毒性試験を行った結果, 硫化水素の 96 hr-LC₅₀ はガザミ, ヨシエビ, テナガエビに対し, それぞれ $31.5 \mu\text{g}\ell^{-1}$, $35.2 \mu\text{g}\ell^{-1}$, $51.0 \mu\text{g}\ell^{-1}$ であった。無酸素条件下でのガザミ, ヨシエビ, テナガエビの半数死亡時間 (LT₅₀) は, それぞれ28時間 (1.2日), 22時間 (0.9日), 35時間 (1.6日) であり, 無酸素耐性はテナガエビ, ガザミ, ヨシエビの順で高かった。今回実施した無酸素と硫化水素の複合的な実験条件下でガザミ, ヨシエビ, テナガエビの LT₅₀ はそれぞれ20時間 (0.8日), 22時間 (0.9日), 26時間 (1.1日) となった。以上の結果からガザミとヨシエビは, 硫化水素を伴った貧酸素水塊が形成された場合, テナガエビより耐性が低いと判断される。

キーワード: 耐性, 底生性甲殻類, 無酸素, 硫化水素

緒 言

通常, 沿岸域, 河口域および湖などで底質が嫌気状態となる水域では等脚類, 渦虫類, 貝類のような底生動物群の生息は, 貧酸素水塊の出現により制限される (STERRER and RIEGER, 1974; FARRIS, 1977)。さらに, 貧酸素水塊の形成に伴う硫化水素の発生は, 浮遊性動物にも致命的な悪影響を与える (FENCHEL and RIEDL, 1970)。これは硫化水素が低い濃度 ($<1 \text{ mg}\ell^{-1}$) でも水生動物の生存に致命的である (BONN and FOLLIS, 1967; DONAVON and LYDON, 1974; SMITH *et al.*, 1976) からである。しかし, 少数の底生動物群は, このような悪条件下で短期間の生存が可能であるが (LASSERRE and RENAUD, 1973), 甲殻類は多毛類や貝類などに比べ一般に低い耐性を示す (THEEDE *et al.*, 1969; STICKIL *et al.*, 1989)。このような観点から, 底生性甲殻類中でも瀬戸内海周辺で経済的に重要な種であるガザミ, ヨシエビ, テナガエビを対象として硫化水素の毒性を把握し, さらに, 無酸素及び無酸素と硫化水素の複合的な条件下の耐性を検討した。

実 験 動 物

ガザミ ガザミ *Portunus trituberculatus* は青森湾以南, 九州, 沖縄, 韓国, 台湾, 中国など極東に分布する種であり, 経済的に重要な種であるため, 広島県栽培漁業協会では稚ガニまで飼育し, 瀬戸内海各地に放流している。実験に用いたガザミは, 1992年7月に広島県栽培漁業協会でふ化させ, 稚ガニまで成育させたものを広島大学水産実験所へ運搬したものである。実験には運搬した稚ガニを容量1トンの円筒形流水式水槽で水温, 塩分, 溶存酸素がそれぞれ $22.0\sim24.5^\circ\text{C}$, $31\sim33\text{‰}$, $7.1\sim7.4 \text{ mg}\ell^{-1}$ の条件下で2週間以上馴致させたのち, 雄雌にかかわらず使用した。餌料は冷凍オキアミと二枚貝を混合して二日毎に充分に供給した。

ヨシエビ ヨシエビ *Metapenaeus monoceros* は東シナ海, 東インド諸島, オーストラリアなどの浅海に生息する。本邦では東京湾以南の太平洋岸, 中部以南の日本海沿岸に産し, 経済的に重要な種であるため, ガザミとともに広島県栽培漁業協会では稚エビまで飼育したのち, 瀬戸内海に放流あるいは漁業者に供給している。実験に用いたエビは広島県栽培漁業協会でふ化させた放流直前の稚エビを1992年8月に広島大学水産実験所の1トンの水槽に移し, 3週間以上飼育したものである。飼育中の餌料としては, アルテミア幼生

とクルマエビ飼育用餌料を毎日充分に供給した。飼育中の水温、塩分、DO濃度はそれぞれ22.1~24.7°C, 31~33‰, 6.9~7.3 mgℓ⁻¹であった。

テナガエビ テナガエビ *Macrobrachium nipponense* は日本をはじめ韓国、台湾、ベトナムなど極東から東南アジアにかけての河川や湖沼に生息する大型の淡水エビであり、日本の淡水エビ類の中では産業的に最も重要な種とされている。テナガエビは1991年度12月に児島湖で漁獲されたものを実験室で馴致させた。この時、水温は20±1°C、塩分は10±1‰、DO濃度は6.8~7.2 mgℓ⁻¹であった。馴致期間中二枚貝の肉と冷凍オキアミを混合した餌料を毎日充分に給餌した。このような条件下で1週間以上飼育したものから年齢、性別にかかわらず類似なサイズの個体(28.5~37.2 mm)を選別して実験を行った。

実験方法

硫化水素の毒性実験 実験は姜ほか(1993)がガザミ幼生の毒性実験に用いたものと同じ装置により行った。すなわち、半流水式装置を用いて硫化ナトリウム($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)の溶液の継続的な供給により硫化水素濃度を設定し、実験期間中の水質は実験チャンバーの流入水、流出水および実験チャンバーの中央部に対して毎日測定し、その結果は平均値で示した。硫化水素濃度はガザミ稚仔とヨシエビ稚仔に対しては約10, 20, 30, 50 µgℓ⁻¹、テナガエビ成体に対しては約20, 35, 50, 75 µgℓ⁻¹のそれぞれ4水準とし、実験区別に20個体ずつを用いて行った。硫化水素の解離は $\text{H}_2\text{S} \rightleftharpoons \text{HS}^- + \text{H}^+$, $\text{HS}^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{S}^{2-}$ のように二段階に起こる。しかし、水中ではほとんどが硫化水素イオン(HS^-)の状態で存在すると考えられている。ここでは HS^- と S^{2-} を総称して硫化水素と定義し、硫化水素濃度は S の重量濃度として µgℓ⁻¹ で示した。水温はガザミとヨシエビの実験では自然の状態とし、テナガエビの実験は冬期を行ったため、ヒーターとサーモスタットにより水温を約20°Cに調節した。塩分に関しガザミとヨシエビの実験には自然海水を用いたが、テナガエビの実験では採集した水域の塩分を考慮して塩分を10‰に調整した。DO濃度はエーポンプにより飽和状態に調節し、給餌はしなかった。24時間毎に死亡した個体を計数し、2回反復実験の平均値から96時間半数致死濃度(96hr-LC₅₀)を求めた(LENORE *et al.*, 1989)。

耐性実験 実験は無酸素区(Anoxia)、無酸素と硫化水素複合条件区(Anoxia+H₂S)、対照区の計3実験区を設定して行った。実験方法の概略をFig. 1に示した。すなわち、縦45 cm、横30 cm、高さ15 cmの密閉可能なプラチックス製の水槽3個を用い、それぞれに約15ℓの濾過海水を入れ、Anoxia区、Anoxia+H₂S区、対照区を設定した。無酸素状態はN₂ガスの通気によって調整し、この際、空気の水槽内への侵入を防ぐために水槽蓋を密閉した。

Anoxia+H₂S条件は無酸素状態に硫化ナトリウム($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)溶液を予備実験の結果に基づいて12時

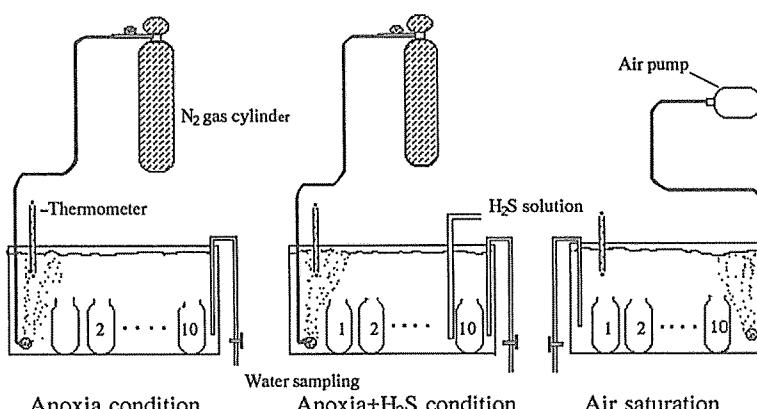


Fig. 1. Schematic diagram of experimental apparatus.

間毎に添加することにより調節した。ここで、硫化水素濃度は、ガザミとヨシエビに対しては瀬戸内海で測定された濃度を参考にして約 $10 \mu\text{g/l}$ に設定し、テナガエビに対しては児島湖の濃度を参考に約 $25 \mu\text{g/l}$ とした。実験動物は個体間の損傷あるいは共食いを防止するため、1 個体ずつ 250 ml ガラス瓶に入れ、計20個のガラス瓶を1組として無酸素状態と硫化水素濃度が調整された水槽中に配置した。各水槽中の水質として DO 濃度（ワインクラー法）、pH（pH メーター）、 H_2S 濃度（メチレンブルー法）、塩分（YSI サリノメーター Model 133），温度（温度計）を実験開始直前、実験中及び1組の実験動物が全滅した時点に測定した。耐性実験は1組の実験動物が全滅するまで継続して行い、明暗周期は 14hL: 10hD とし、実験期間中の給餌はしなかった。

実験結果

硫化水素の毒性 実験中の硫化水素平均濃度は、ガザミとヨシエビの設定濃度水準である $10, 20, 30, 50 \mu\text{g/l}$ に対し、それぞれ $11.2 \pm 1.2, 20.5 \pm 3.4, 32.4 \pm 3.3, 51.3 \pm 5.1 \mu\text{g/l}$ 、テナガエビに設定した $20, 35, 50, 75 \mu\text{g/l}$ 対しては $22.5 \pm 4.1, 35.8 \pm 5.5, 53.2 \pm 6.0, 75.3 \pm 8.1 \mu\text{g/l}$ で、設定目標濃度より $1 \sim 3 \mu\text{g/l}$ 程度高かった。実験水槽中の他の水質は、ほぼ前述の設定目標水準が維持されていた（Table 1）。硫化水素条件に暴露したガザミとヨシエビの96時間後の生存率は H_2S 濃度 $32.4 \mu\text{g/l}$ 以上で50%以下を示し（Fig. 2a, b），テナガエビの生存率は H_2S 濃度 $53.2 \mu\text{g/l}$ 以上で50%以下を示した（Fig. 2c）。96時間半数致死濃度（96hr-LC₅₀）はガザミ、ヨシエビ、テナガエビに対しそれぞれ $31.5, 35.2, 51.0 \mu\text{g/l}$ となり（Table 1），今回の実験条件のもとでは硫化水素の毒性はガザミ、ヨシエビ、テナガエビの順に強く現れた。

耐性実験 Anoxia と Anoxia+ H_2S 条件での実験水槽中の水質測定結果を Table 2 に示した。Anoxia 状態の各実験区ではほぼ無酸素状態が保たれており、実際の平均 DO 濃度はガザミ、ヨシエビ、テナガエビの実験で、それぞれ $0.35, 0.20, 0.15 \text{ mg/l}$ であり、その変動幅は全実験において 0.5 mg/l 以下であった。硫化水素濃度は約 $10 \mu\text{g/l}$ 水準に設定した濃度が実際には平均 $12 \mu\text{g/l}$ ($8.2 \sim 14.3 \mu\text{g/l}$)、 $25 \mu\text{g/l}$ 水準の濃度が平均 $22.5 \mu\text{g/l}$ ($19.8 \sim 25.3 \mu\text{g/l}$) となり、設定目標濃度に対する変動幅は約 $2 \sim 5 \mu\text{g/l}$ であった。温度と塩分はテナガエビの実験では設定目標とほぼ同じであり、ガザミとヨシエビの実験では特に制御していないため、自然状態とほぼ同様であった。

Anoxia と Anoxia+ H_2S 条件下での甲殻類耐性実験の結果を Fig. 3 に示した。ガザミの生存日数は Anoxia 条件下で1.5日（36時間）であり、Anoxia+ H_2S 条件下では1.3日間（31時間）であった（Fig. 3a）。ヨシエビは Anoxia 条件下で1.3日間（32時間）生存し、Anoxia+ H_2S 条件下で1.3日間（33時間）生存した（Fig. 3b）。テナガエビは Anoxia 条件下で2日間（47時間）生存し、Anoxia+ H_2S では1.7日間（41時間）生存した（Fig. 3c）。Anoxia 条件下での各生存曲線から求めたガザミ、ヨシエビ、テナガエビの半数致死時間（LT₅₀）はそれぞれ1.2日（28時間）、0.9日（22時間）、1.6日（35時間）であり、Anoxia+ H_2S 条件下の LT₅₀ は0.8日（20時間）、0.9日（22時間）、1.1日（26時間）であった。これらの結果から無酸素

Table 1. Lethal concentration of hydrogen sulfide for test animals; data were presented as ^arange or ^bMean \pm SD (n=5).

Species	Experimental condition				96-hr LC ₅₀ conc. ($\mu\text{g/l}$)
	^a Temp. (°C)	^a Sal. (%)	^a pH	^b DO conc. (mg/l)	
<i>Portunus trituberculatus</i>	21.5 ± 1.0	32 ± 0.5	8.2 ± 0.2	7.1 ± 0.2	31.5
<i>Metapenaeus monoceros</i>	22.0 ± 1.0	32 ± 0.5	8.1 ± 0.3	7.2 ± 0.3	35.2
<i>Macrobrachium nipponense</i>	20.2 ± 0.2	10 ± 0.1	7.5 ± 0.2	6.4 ± 0.3	51.0

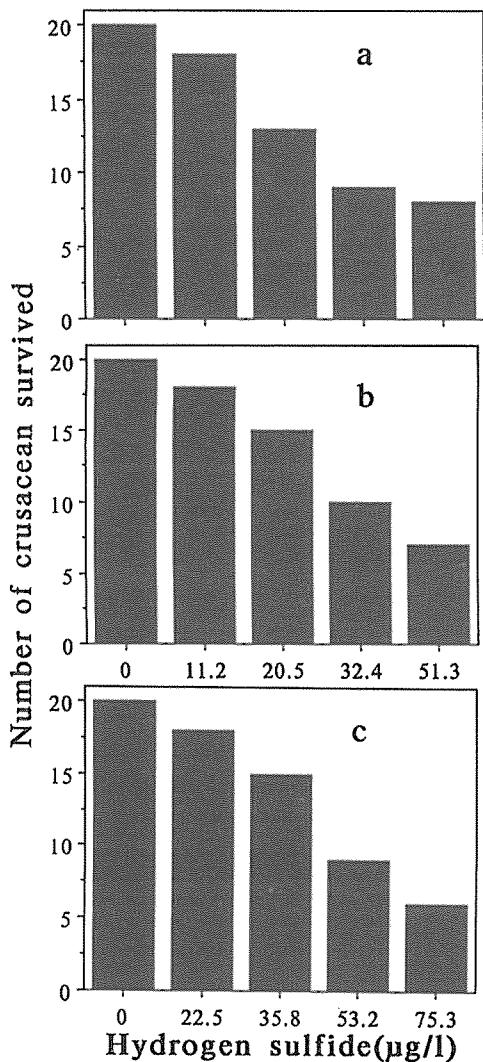


Fig. 2. Survival of test animals after 4 days exposure to hydrogen sulfide. (a) *P. trituberculatus*, (b) *M. monoceros*, (c) *M. nipponense*.

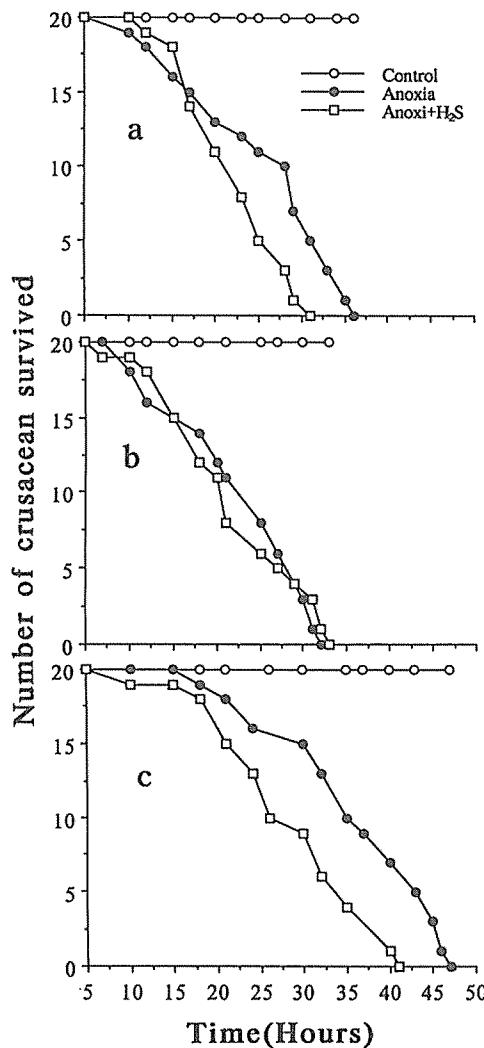


Fig. 3 Number of survived test animals as a function of time in anoxia and anoxia with hydrogen sulfide. (a) *P. trituberculatus*, (b) *M. monoceros*, (c) *M. nipponense*.

Table 2. Water quality of each experimental condition during anoxia; data presented as ^arange or ^bMean±SD ($n=5$).

Species	^a DO conc. (mg/l)	^b H ₂ S conc. (µg/l)	^a Temp. (°C)	^a Sal. (‰)	^a pH
<i>Portunus trituberculatus</i>	0.35±1.5	12.1±0.6	22.0±1.0	32.0±0.5	7.5±0.3
<i>Metapenaeus monoceros</i>	0.20±2.0	11.8±0.4	21.5±1.5	32.0±0.5	8.2±0.4
<i>Macrobrachium nipponense</i>	0.15±0.5	22.5±0.8	20.0±0.1	10.0±0.2	8.3±0.2

耐性は、テナガエビ、ガザミ、ヨシエビの順で高く、無酸素と硫化水素の複合条件に対する耐性も、テナガエビで最も高く、ヨシエビとガザミではほぼ同等であった。また、ヨシエビの場合は Anoxia 単独条件と Anoxia+H₂S の複合条件に対し耐性の差異が認められなかった。一方、硫化水素を添加しない DO 饰和度 100%の対照区の水槽では、実験が終了するまで 3 種の甲殻類のいずれもが 100%の生存を示し、活発な遊泳行動などを行ったのに対し、無酸素と硫化水素に暴露した甲殻類は、ほとんど活動せず、水槽底面に停止していた。

考 察

硫化水素が水生動物に及ぼす毒性は、一般に水中 DO 濃度、pH あるいは温度によって異なる。ADELMAN and SMITH (1970) は northern pike に対する硫化水素の 96hr-LC₅₀ が DO 濃度 6.0mg·l⁻¹ で 26.0 μg·l⁻¹ であるのに対し、DO 濃度 2.0mg·l⁻¹ では 9.0 μg·l⁻¹ に低下することを指摘した。また、金魚 *Carassius auratus* に及ぼす硫化水素の毒性は、水温が 7°C から 17°C まで 10°C 増加することにより 5.5 倍増加した (ADELMAN and SMITH, 1972)。BONN and FOLLIS (1967) は channel catfish に対する硫化水素の TL_m が pH6.8 で 800 μg·l⁻¹ であるのに対し、pH7.8 では 530 μg·l⁻¹ となることを明らかにした。これらの結果からは水質の変動により硫化水素の毒性が、DO 濃度 4 mg·l⁻¹ の低下により 3 倍、水温の 10°C 増加により 5.5 倍、pH の 1.0 低下により 1.5 倍強くなったと考えられる。これまでに報告されている種々の実験条件下での水生甲殻類の 96hr-LC₅₀ 値と今回の結果を Table 3 に整理した。これらの研究結果によれば、大部分の水生甲殻類の 96hr-LC₅₀ は 100 μg·l⁻¹ 以上であり、本実験種 (ガザミ, 31.5 μg·l⁻¹; ヨシエビ, 35.2 μg·l⁻¹; テナガエビ 51.0 μg·l⁻¹) より高かった。すなわち、本実験種に対する硫化水素の毒性は他の種に比べて少なくとも 2 倍以上強かったので、この原因について吟味した。Table 3 に示している実験条件として DO 濃度は約 2.0~7.0 mg·l⁻¹ の範囲にあり、水温は約 15~23°C にわたっていたため、DO 濃度と水温の影響が考えられる。すなわち、本実験の水温が約 5°C 以上高かったために、毒性は少なくとも 2 倍以上強く現れたと推定される。しかし、DO 濃度からすると、他の実験条件より約 5 mg·l⁻¹ 高い濃度であるため、毒性は少なくとも 3 分 1 以下に低下したであろう。従って、DO 濃度や水温などの実験条件の差を考慮しても本実験に用いたガザミとヨシエビに対する硫化水素の毒性は、強いものと考えられるが、その理由の一つに本実験ではガザミとヨシエビの稚仔を用いたことがあげられる。従って、それらの稚仔は他の甲殻類の成体に比べ硫化水素が存在する水域での生存可能性は低いといえよう。

無酸素条件下でガザミ、ヨシエビ、テナガエビは、それぞれ 1.5 日、1.2 日、2 日間生存し、LT₅₀ は 1.2 日、0.9 日、1.5 日間で、無酸素に対する耐性は、テナガエビ、ガザミ、ヨシエビの順で高かった (Fig. 3)。無酸素条件 (<0.5mg·l⁻¹) に対する水生無脊椎動物の耐性を Table 4 に示した。これまでの研究によれば、無酸素条件下で多毛類の LT₅₀ は 8~10 日間であった。貝類 *T. haemastoma* と *C. virginica* の LT₅₀ は両者ともに水温 10°C で 20 日、水温 30°C ではそれぞれ 15、3 日であった。しかし、甲殻類の LT₅₀ は 2 日以内で、多毛類や貝類に比べて甲殻類は低い耐性を示した。これらの結果は無酸素が発生する天然水域で甲殻類の生存可能性が他の無脊椎動物に比べて低いことを意味する。

無酸素条件下での平均 12 μg·l⁻¹ の硫化水素の添加によりガザミ、ヨシエビの LT₅₀ は、それぞれ 0.8 日、0.9 日となり、ガザミの半数致死時間は、無酸素単独条件下 (1.2 日) に比べやや短縮したが、ヨシエビのそれは変わらなかった (Fig. 3a, b)。このように今回の無酸素と硫化水素の複合条件がヨシエビの LT₅₀ に影響を与えたことは、これまでの研究からすると、論議を要する点である。すなわち、これまでの研究では無酸素条件下での硫化水素の添加は水生動物の生存期間をさらに短縮させた (THEEDE et al., 1969; GROENENDAL, 1980; BESTWICK et al., 1989)。しかし、これらの研究は平均硫化水素濃度 320 μg·l⁻¹ で行われており、一方、本実験のヨシエビに対する平均硫化水素濃度は 11.2 μg·l⁻¹ であった。硫化水素の単独毒性実験結果からすると、この硫化水素濃度は、ヨシエビの 4 日後の生存に影響しなかった。従って、無酸素状態との複合条件下でもヨシエビの抵抗性を低下させるほどには作用しなかったと考えられる。

Table 3. 96-hr LC₅₀ values of hydrogen sulfide for aquatic crustaceans.

Test animal	96-hr LC ₅₀ conc. ($\mu\text{g/l}$)	Experimental condition		
		DO conc. (mg/l)	Temp. (°C)	pH
¹ Isopod (adult)				
<i>Assellus militaris</i>	107.0	2.0	15.2	7.5
¹ Amphipods (adult)				
<i>Crangonyx richmondensis</i>	840.0	2.0	14.9	7.4
¹ Ephemeroptera (adult)				
<i>Baetis vagans</i>	20.0	6.2	14.8	7.6
<i>Ephemerella simulans</i>	316.0	1.9	15.0	7.4
<i>Hexagenia limbata</i>	111.0	2.0	15.0	7.7
² <i>Gammarus pseudolimmaeus</i> (adult)	20.0	7.4	17.6	7.4
³ <i>Portunus trituberculatus</i> (juvenile)	31.5	7.1	22.0	8.2
³ <i>Metapenaeus monoceros</i> (juvenile)	35.2	7.2	21.5	8.1
³ <i>Macrobrachium nipponense</i> (adult)	51.0	6.4	20.0	7.5

¹Donavon and Lloyd (1974a), ²Donavon and Lloyd (1974b), ³Present study

Table 4. Tolerance to experimental anoxia by benthic animals.

Species	LT ₅₀ (days)	Temp. (°C)	Reference
Polychaetes			
<i>Cirriformia tentaculata</i>	10	12	Bestwick <i>et al.</i> , (1989)
<i>Nereis diversicolor</i>	8	14	Henriksson (1969)
Molluscs			
<i>Thais haemastoma</i>	20	10	Kapper & Stickle (1987)
	15	30	
<i>Crassostrea virginica</i>	20	10	Stickle <i>et al.</i> , (1989)
	3	30	
Crustaceans			
<i>Gammarus oceanicus</i>	0.6	-	Theede <i>et al.</i> , (1969)
<i>Carcinus maenas</i>	2	10	Theede <i>et al.</i> , (1969)
<i>Palaemonetes pugio</i>	1	30	Stickle <i>et al.</i> , (1989)
<i>Penaeus aztecus</i>	1	20	Stickle <i>et al.</i> , (1989)
<i>Portunus trituberculatus</i>	1.2	22	Present study
<i>Metapenaeus monoceros</i>	0.9	22	Present study
<i>Macrobrachium nipponense</i>	1.6	20	Present study

一般に、無酸素と硫化水素に対する水生動物の耐性は種やサイズ、生息環境などによっても制限される (SANDRA and TIMOTHY, 1983)。本実験に用いたガザミとヨシエビは稚仔であり、テナガエビは成体であった。また、テナガエビは淡水域から汽水域までの汚染負荷が強い水域にも分布できるのに対し、ガザミとヨシエビは、通常あまり汚染の進んでない海域に生息する。従って、テナガエビがガザミとヨシエビに比べ硫化水素と無酸素に対する耐性が高かったことは、その生息域とともに成体と稚仔の違いを反映しているものとも考えられる。

以上から、本実験の結果は次のように結論づけられる。すなわち、ガザミ、ヨシエビ、テナガエビに対する硫化水素の 96hr-LC₅₀ 値は、それぞれ 31.5, 35.2, 51.0 $\mu\text{g l}^{-1}$ であり、毒性はガザミ、ヨシエビ、テナ

ガエビの順で高く現れた。無酸素に対するガザミ、ヨシエビ、テナガエビの LT_{50} は、それぞれ1.2日、0.9日、1.6日であり、無酸素に対する耐性はテナガエビ、ガザミ、ヨシエビの順で高かった。これまでにも底層水の無酸素化あるいは貧酸素化に伴う硫化水素の発生する水域では両者の複合的影響により底生動物群集の集団死滅が起こることが報告されている (MACDONALD and MUDIE, 1974; OFFICER *et al.*, 1984)。本実験種が生息する瀬戸内海や児島湖などでも実際に今回の実験条件に匹敵する悪環境の形成が報告されている (藤沢ほか, 1978; OCHI and TAKEOKA, 1986)。従って、本実験種、特にガザミとヨシエビは、本来の生息域のうち貧酸素と硫化水素が共存する水域ではその生存可能性が低いものと判断される。

謝辞 本研究を行うに当たり、広島県栽培漁業協会から実験材料のガザミとヨシエビを提供していただき、また、同協会に厚く御礼を申し上げる。

引 用 文 献

- ADELMAN, I. R. and SMITH, L. L., 1970, Effect of hydrogen sulfide on northern pike eggs and sac fry. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 3: 501-509.
- ADELMAN, I. R. and SMITH, L. L., 1972, Toxicity of hydrogen sulfide to goldfish *Carassius auratus* as influenced by temperature, oxygen and bioassay techniques. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 29: 1309-1317.
- APHA-AWWA-WPCF, 1989, Calculating, analyzing, and reporting results of toxicity tests. In, "Standard Methods" (Lenore. S. C., Arnold, E. G., and Trussell, R. R., ed.), American Public Health Association, Washington DC, 8-33-8-38 pp.
- BESTWICK, B. W., ROBBINS, I. J. and WARREM, L. M., 1989, Metabolic adaptations of the intertidal polychaete *Cirriformia tentaculata* to life in an oxygen-sink environment. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 125: 193-202.
- BONN, E. and FOLLIS, M., 1967, Effects of hydrogen sulfide on channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 96: 31-36.
- DONAVON, O. and LLYOD, S., 1974a, Factors influencing acute toxicity estimates of hydrogen sulfide to freshwater invertebrates. *Water Res.*, 8: 739-746.
- DONAVON, O. and LLYOD, S., 1974b, Chronic toxicity of hydrogen sulfide to *Gammarus pseudolimnaeus*. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 4: 819-822.
- FARRIS, R., 1977, Three new species of Gnathostomula from the Atlantic. *Int. Revue. Ges. Hydrobiol. Hydrogr.*, 62: 765-796.
- FENCHEL, T. and RIEDL, R., 1970, The sulfide system: a new biotic community underneath the oxidized layer of marine sand bottom. *Mar. Biol.*, 7: 225-268.
- GROENENDAAL, M., 1980, Tolerance of the lugworm (*Arenicola marina*) to sulphide. *Neth. J. Sea Res.*, 14: 200-207.
- HENRIKSSON, R., 1969, Influence of pollution on the bottom fauna of the Sound(Oresund). *Oikos*, 20: 507-523.
- 藤沢邦康・三宅与志雄, 1979, 児島湖の水質、底質について. 岡山水試事報, S.52年度, pp. 100-107.
- 姜柱賛・松田治・山本民次, 1993, 広島湾の貧酸素と硫化水素がガザミ幼生の初期発達段階に及ぼす影響. 広島大学生物生産学部紀要, 32: 61-70.
- KAPPER, M. A. and STICKLE, W. B., 1987, Metabolic response of the estuarine gastropod *Thais haemastoma* to hypoxia. *Physiol. Zool.*, 60: 159-173.
- LASSERRE, P. and RENAUD, M., 1973, Resistance and respiratory physiology of intertidal meiofauna to oxygen deficiency. *Neth. J. Sea Res.*, 7: 290-302.

- MACDONALD K. C. and MUDIE, J. D., 1974, Microearthquakes on the Galapagos spreading centre and the seismicity of fast-spreading ridges. *Geophys. J. R. Astr. Soc.*, 36: 245-257.
- OCHI, T. and TAKEOKA, H., 1986, The anoxic water mass in Hiuchi-Nada, Part 1. Distribution of the anoxic water mass. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, 42: 1-11.
- OFFICER, C. B., BIGGS, R. B. TAFT, J. L. CRONIN, L. E., TYLER, M. A and BOYNTON, W. R., 1984, Chesapeake Bay anoxia: origin, development and significance. *Science*, 223: 22-27.
- SANDER, E. S. and TIMOTHY, M. S., 1983, The effects of anoxia and hydrogen sulfide on survival, activity and metabolic rate in the coot clam *Mulinia lateralis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 71: 135-146.
- SMITH, L., OSEID, D. and OLSON, L., 1976, Acute and chronic toxicity of hydrogen sulfide to the fathead minnow *Pimephales promelas*. *Environ. Sci., Technol.*, 10: 565-568.
- STERRER, W. and RIEGER, R., 1974, Retronectidae: a new cosmopolitan marine family of Catenulida (Turbellaria). In, "The Biology of the Turbellaria". (Riser N. and Morse M. ed.), McGraw-Hill Book Co., New York, 108-147 pp.
- STICKLE, W. B., KAPPER, M. A., LIU, L. L., GNAIGER and, E., WANG, S.Y., 1989, Metabolic adaptation of several species of crustaceans and molluscs to hypoxia: Tolerance and microcalorimetric studies. *Biol. Bull.*, 177: 303-312.
- THEEDE, H., PONAT, A., HIROKI, K. and SCHLIEPER, C., 1969, Studies on the resistance of marine bottom invertebrates to oxygen-deficiency and hydrogen sulfide. *Mar. Biol.*, 2: 325-337.

**Tolerance of anoxia and hydrogen sulfide by benthic crustaceans
Portunus trituberculatus, *Metapenaeus monoceros* and
Macrobrachium nipponense.**

Ju-Chan KANG, Osamu MATSUDA

*Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University,
 Higashi-Hiroshima 724, Japan.*

Both acute toxicity tests of hydrogen sulfide and tolerance test to anoxia and anoxia with hydrogen sulfide on *Portunus trituberculatus*, *Metapenaeus monoceros* and *Macrobrachium nipponense* were carried out. The 96hr-LC₅₀ of hydrogen sulfide is 31.5 $\mu\text{g}\ell^{-1}$ for *P. trituberculatus*, 35.2 $\mu\text{g}\ell^{-1}$ for *M. monoceros*, and 51.0 $\mu\text{g}\ell^{-1}$ for *M. nipponense*. In anoxia, values of median lethal time(LT₅₀) were 1.2 day (28hr), 0.9 day (22hr) and 1.6 day (35hr) for *P. trituberculatus*, *M. monoceros* and *M. nipponense*, respectively. The tolerance of *P. trituberculatus* and *M. monoceros* to anoxia is lower than the tolerance of *M. nipponense*. These results suggest that field populations of *P. trituberculatus* and *M. monoceros* are easily affected by natural hypoxia with hydrogen sulfide.

Key words: anoxia, benthic crustaceans, hydrogen sulfide, tolerance