

水産生物の斃死現象に関する研究——Ⅵ

淡水産生物の体内濃度からみたPCPの毒性

箕 田 冠 一

I 緒 言

近次の各種原因による水産被害の増加は憂慮すべきものがあり、斯業上の大きな問題となりつつある。就中、農薬PCPによるそれは、従来にみない大規模な例の一つとして注目されるものである。この種の問題は、その科学的根拠の不明確さが、一層事態を紛糾させることが多いので、その科学的解明が重要視されてはいるが、種々の隘路があって、明確な解明をうることは困難な場合が多い。

従来このような問題に際して主に採られて来た究明の手段は、外囲水中からの有害因子の検出定量、生物試験による毒性の検定、残留斃死生体の病理組織学的変化の有無などが主であった。

もともと天然水域に正常に繁殖生息している水産生物が斃死などの異常現象を呈するような場合水、底質等の環境に生物に有害に働く何らかの異変が起っていることは当然考えられる所であるが一方生物体内にも、これに呼応して、個体を死の機転に到らしめる何らかの変異が起っていなければならない。従って、この生物体内の変異を追求することは、斃死現象を解明する有力な手段となる。

筆者は、本県において過去数年来、多発するPCPの水産被害問題に際して、このような観点からの解明の必要を痛感し、検討を進めて来たが、幸いこの問題については、最も直接的且つ端的に生体内に侵入、蓄積されたPCP自体を化学分析により確認、定量することが可能となり¹⁾ ²⁾ ³⁾、従来とは全く異った面から、明確にその毒性を指摘し得るに到った。それにより、従来はその科学的論拠をさえ疑われていた本PCP問題において、斃死原因の判断は基より、致死に到らぬような場合でも影響の有無、程度などまで或程度明らかにすることが可能になった。

こゝには、昭和38年度夏期における、多くの現場調査及び分析例の典型的なものと、附帯して行なわれた室内試験を整理して述べ、参考の資としたい。

なお、本報の一部については、昭和38年度全国湖沼河川養殖研究会(第36回大会)で口頭発表した。

室内実験の計画に当っては、東京大学・日比谷京先生に種々御助言をいたゞいた。こゝに深謝し

たい。

Ⅱ 実験材料及び方法

1) 現場調査の実例の場合 時期 昭和38年5月～6月

異常斃死発生の通報をうけると直ちに現場に急行、採水、採泥、生物体の採集を行なう。生物体の Sample は、出来るだけ死後経時の少ないと思われるものを選ぶ。生物体はポリエチレン袋に入れ、標識して、携帯用冷蔵庫に入れ、氷蔵して持帰り、分析に供試する。供試部位は魚の場合は腹部内臓を中心とし、貝の場合は肉部を無作為にとった。特に生鮮で大型な魚が得られた場合には、各器官に分けて供試した。

2) 室内実験の場合 時期 昭和38年8月～9月

コイ稚魚を供試魚として、従来の生物試験の如き方法で PCP を作用させ、外囲水中の濃度と体内に蓄積される量、致死時間などの関係を実験的に追求してみた。

実験水温 23.3℃～25.2℃

供試魚・コイ, *Cyprinus. carpio. L.* 当時飼育の当才魚. 24 h 飼止め後供試

全長 6.6～8.8 cm 全重 4.8～10.0 g

供試 PCP. 保土ヶ谷化学製 PCP-Na 供試品. 有効成分 25% のもの

供試稀釈水. びわ湖から簡易濾過揚水した当時水道水 (水質は本報Ⅱ参照)

供試水量. 各区共 40 l

魚 数. 各区共 10 尾あて

3) 生物体内 PCP の分析方法

分析方法は、本研究 V¹⁾ に記載した方法に従った。但し、妨害色の除去のための蒸発乾固の操作はしていない。よって、妨害色共存の状態では 500 m μ 及び 600 m μ での吸光度の差から、計算により PCP の正確な量を求めた。この方法では、PCP 量が 100% 以上あると問題はないが、それ以下濃度が低くなると、妨害色が相対的に大きくなるので、計算により妨害色の値を知り、これを差引こうとするものである。

水の場合は、本研究 IV⁴⁾ に記載した方法通り分析した。

なお、表示した PCP の値はすべて PCP-Na としてのものである。PCP-OH への換算率は PCP-Na 1.082 : -OH 1.000 である。

Ⅲ 結 果

1) 現場調査分析の実例について

分析結果の主なものを、生物種類別に分類整理したものが第 1 表である。同時に採集した水、底質の分析値は割愛した。又、検出定量値で 100 μ /10 g 程度以上のものは濃度が高すぎて、そのまま比色出来ないが、改めて前処理し直すことが出来ないことが多い (Sample が無い) し、あっても非常に時間がかかるので、発色したものをクロロホルムで希釈して比色定量した。

従って、高濃度の場合の値は厳密なものとは云いがたい。大体の濃度の見当をつける程度の数値と見なしたい。実際の濃度より、小さく出ている可能性があろう（薬量などの関係で）。

第1表 分析結果表

試料No	調査時	調査 採集場所	種類	採集時の 状態	全長	重量	供試部位	供試量	体内 PCP 濃度	備考	
1	38.6.27	蒲生郡 安土町	コ	イ	生 弱っている	28.0	291 [♀]	鰓	13.4	160 ^{2/10[♀]}	蓄養池
								内臓液	10.0	480	
2	38.6.27	蒲生郡 安土町	コ	イ	死直後	31.5	415	内臓液	10.0	1120	蓄養池
								背筋肉	10.0	0	
3	38.6.27	蒲生郡 安土町	コ	イ	死直後	36.0	1000	鰓	10.0	330	蓄養池
								血液	4.9	880	
								肝スイ臓	14.2	240	
								胆ノー	3.2	1130	
								腎臓	10.0	210	
								消化管	13.2	170	
								精巢	10.0	85	
背筋肉	10.0	85									
4	38.6.21	伊香郡 西浅井村	フ	ナ	死・腐敗	27.0	210	腹部混合	10.0	290	田用水路
5	38.5.27	野洲郡 中主町	フ	ナ	死 比較的鮮	24.6	230	内臓	10.0	995	真珠漁場
6	38.6.22	近江八幡市 中ノ庄	フ	ナ	死・直後	8.6	7.5	全身	7.5	715	真珠漁場
7	38.6.22	近江八幡市 中ノ庄	フ	ナ	死・直後	9.2	8.0	全身	8.0	370	真珠漁場
8	38.6.22	近江八幡市 中ノ庄	フ	ナ	死・直後	32.5	480	鰓	11.8	270	真珠漁場
								浸出粘液	4cc	865	
								消化管	10.0	750	
								卵巢	10.0	260	
								背筋肉	10.0	145	

試料 No	調査時	調 査 採集場所	種 類	採集時の 状 態	全長	重量	供試部位	供 試 量	体 内 PCP 濃 度	備 考
9	38.6.21	伊香郡 西浅井村	ナ マ ズ	死 やゝ腐敗			腹 部 肉 臓 内	10.0	330 ^{2/10}	田用水路
10	38.5.30	東浅井郡 びわ村	ナ マ ズ	死 やゝ腐敗	40.5	418	肉・内臓	10.0	380	田用水路
							鰓	4.0	235	
							肝 臓	5.3	25	
							内 臓 液	10.8	315	
							筋 肉	10.0	145	
11	38.6.21	伊香郡 西浅井村	ギ ギ	死・腐敗	292	115	肉・内臓	10.0	245	田用水路
12	38.5.27	野洲郡 守山町	ハ ス	死直後	19.1	54.5	肉・内臓	10.0	30	河川・ヤ ヤス川
13	38.5.27	野洲郡 守山町	オ イ カ ワ	生 死の直前	14.6	295	肉・内臓	10.0	35	全上
14	38.5.27	野洲郡 守山町	ニ ゴ イ	生 ふらふら泳ぐ	34.0	290.8	肉・内臓	10.0	110	全上
15	38.5.27	野洲郡 守山町	カ マ ツ コ	死 後 6 h 経過	15.3	26.9	肉・内臓	10.0	10	全上
16	38.6.22	近江八幡市 中ノ庄	ヤリ・タナゴ	死 鮮	8.9	9.1	全 身	9.1	215	真珠漁場
17	38.6.22	近江八幡市 中ノ庄	ゼゼラ イモシタナゴ	死 鮮	6.0 5.8	1.6 1.3	混・全身	2.9	330	全上
18	38.6.22	近江八幡市 中ノ庄	ワ タ カ	死・腐敗	24.0	130	肉・内臓	10.0	330	全上
19	38.6.27	近江八幡市 野村町	ア ユ	生直前 死	3尾	12	3尾全身	12.0	0	河川・ヤ ヒノ川
20	38.5.27	野洲郡 中主町	イケチヨ-ガイ	生 非常に弱る	14.7	185	肉部混	10.0	180	真珠漁場
21	38.5.27	野洲郡 中主町	イケチヨ-ガイ	生・元気	13.2	190	肉部混	10.0	20	全上
22	38.5.8	近江八幡市 中ノ庄	イケチヨ-ガイ	生・元気	9.2	62.4	肉部混	10.0	15	全上
23	38.5.4	草津市 下物町	イケチヨ-ガイ	生・元気	-	-	肉部混	10	20	全上
24	38.6.22	近江八幡市 中ノ庄	イケチヨ-ガイ	生・弱る	12.7	210	肉部混	10	90	全上
25	38.7.6	草津市 志那町	イケチヨ-ガイ	生・元気	11.6	163	肉部混	10	35	全上
26	38.7.6	全上	イケチヨ-ガイ	生・元気	11.6	140	肉部混	10	5	全上
27	38.5.27	野洲郡 中主町	イケチヨ-ガイ	死 鮮	10.2	86	肉部混	10	255	全上
28	38.5.25	実 験	イケチヨ-ガイ	死 鮮	15.0	255	肉部混	10	225	10ppm中 24h浸漬

2) コイを供試魚とした室内実験の結果

これは、Fieldの試料からだけでは知ることが出来ない、外国水中のPCPと体内濃度の関係や致死時間とPCPの体内濃度、致死時に蓄積されているPCP等について、検討するため、室

第 2 表

試験区	PCP-Na 計画濃度	致死の状況									致死率	水温℃		PH		O ₂ cc/l	
		m	h	h	3	4	8	12	24	低		高	始	終	始	終	
		15	30	100	2												
1	PPm 0.0			◎		◎	◎	◎	◎	◎	0	23.3	24.7	7.52	7.35	5.74	3.06
2	0.1			◎		◎	◎	◎	◎	◎	0	23.6	24.8	7.55	7.25	5.03	1.46
3	0.2			◎		◎	◎	◎	◎	◎	100	23.5	24.6	7.68	7.38	4.80	2.41
4	0.4		◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	100	24.3	25.2	7.65	7.42	5.84	3.51
5	0.6		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	100	24.2	24.6	7.55	7.45	5.26	4.13
6	1.0	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	100	24.2	24.6	7.62	7.62	4.72	4.16

注 ○印・生存取上げ ●印・致死取上げ ◎◎印・体内濃度測定に供試
 水量各区共 40 l 供試魚コイ各 10尾宛 全長 6.6~8.8 cm 重量 4.8~10.0

第 3 表

試験区	水中 PCP-Na 計画濃度	水中 PCP-Na 実測濃度			水中 PCP-Na 全量			PCP 体内濃度(-Naとして) 単位 /10g生体								体内 PCP 総量	PCP 消失量	
		始時	終時	減少%	始時	終時	減少量	m	m	h	2	3	4	8	12			24
								15	30	1	2	3	4	8	12			24
1	PPm 0.0	0.0	0.0	-	γ	γ	γ				0	0	0	0	0	γ	γ	
2	0.1	0.09	0.03	67	3.600	1.200	2.400				18	44	51	106	140	500 ~1000	1400 ~1900	
3	0.2	0.15	0.09	40	6.000	3.600	2.400				56	72	67	228	238	900 ~1800	600 ~1500	
4	0.4	0.32	0.26	19	12.800	10.400	2.400				48	111	106	235		1100 ~2200	200 ~1300	
5	0.6	0.56	0.48	14	22.400	19.200	3.200				25	—	212	252 206 135		950 ~1900	1300 ~2250	
6	1.0	0.90	0.82	9	36.000	32.800	3.200				58	67	167	366 280 475		1350 ~2700	500 ~1850	

注 ○印・生存取上げ分析 ●印・致死取上げ分析

体内 PCP 総量は体重 5g ~ 10g の巾で算出した。従って、1区 10尾の全部が 5g の場合と全部 10g の場合の巾になっている。大まかな目安である。又、各区の最終取上げ魚数尾の内 1~2尾分析した場合は分析しないものも同等の濃度と見なしたが、個体差はかなり大きい。

内実験で確めたものである。

その結果を要約すると第2表及び第3表の如くとなる。何しろ、生物体中に入ったPCPを撰択的に抽出濃縮して定量すると云うかなり複雑な分析操作を伴うため、1試料の処理に時間がかかる。従って、個々の数値自体を厳密に検討している余裕が持てず、野外で得たデータとの関連もあり、大まかに全体的傾向を掴むことに重点をおいた。

IV 考 察

1) 現場調査分析結果について

- イ) 農業PCPで水産生物が致死的影響をうけた場合、大かたの水産生物ではその体内に吸収され、蓄積され、致死せしめたPCPそのものが残留して居ることはほぼ確実と云える。
- ロ) この体内のPCPを、化学的に分析検出することは、斃死の原因がPCPであるかどうかを判定する最も確実な手段と云えよう。
- ハ) 生物体内には、水の場合に比し、はるかに高濃度にPCPが集積されていることが多く、その量はここに示したデータの中だけでも場合により $1000 \mu/10g$ 生体以上に達している。これは100 ppmにもなる値である(PCP-Naとして) これは斃死原因のための分析試料としては、斃死時の状態が比較的長く保たれることと相俟って、遙かに有利な点をそなえていることを示す。
- ニ) PCPによる斃死事故の際野外で得られる試料中から検出されるPCPの量は非常にまちまちなものである。特に生物種間の差異と、同一個体内での供試部位(器官)による差異は著しい。
- ホ) 記載したデータの中で致死時のPCP体内濃度の差を概括すると、コイ、フナ、ナマズ、ギギ、タナゴ類、ゼゼラ、ワタカ等は、非常に高い部類に入り、ニゴイ、イケチヨウガイなどは中間、ハス、オイカワ、カマツカ、アユなどは低い濃度の部類に入ると思われる。この内アユは検出出来なかった。従ってこの場合はPCPの影響をうけたかどうか断定出来ない。

全体的に見ると、清流を好むような魚種は低い致死体内濃度の部類に入るようであり、これらの魚は、体内に入ったPCP量に対しても、抵抗力が弱いのではないかと云うこと、流れの中に棲む関係上、PCP自体の毒作用としては致死的でなくても、遊泳力が弱る等で結果的に致死するようなことが実際には起るのではないかと思われる。

これに反して、いわゆる温水性魚類と云われているものの多くは、致死時のPCP体内濃度が高い。これらの点を要するに、外囲水中のPCP濃度に対する抵抗力の生物種による差異は体内の濃度についてみても、同様に著しいものがあるようである。両者に対する抵抗性が同一の表れ方をするかどうかは今後の検討にまちたい。

- ヘ) 同一個体内でのPCPの分布も又著しい差異をみせている。第1表試料No.1, 2, 3, 8及び10は大型で、各器官が区分出来る程度に新しいものだったので、或程度体内の分布を知るため各種器官別に分析してみたものである。

しかし Fieldの試料であるから条件が一定していないので、こまかく論議することは避けるが感じとして受けとれる点は、血液或いは体液の濃度が高いこと、これらの集る器官に多いこと、筋肉、精巣には少ないこと、肝・スイ臓などに集る傾向は認められないことなどである。

特にNo.2で内臓・血液混合試料で1.000 γ /10 μ 生体以上に達しているのに 背の筋肉(これは鱗・表皮はのぞき、サシミ状の内部のみ供試)では0であるのと、No.3で胆嚢中にとびぬけて多いことが注目される。いづれも試料の保存は理想的なものであった。

又、経験的には、死後経時が長く腐敗が進むと、各器官の分布が均一化し、全体としても徐々にPCPが失われて行くように感じられる。

いづれにしても、やゝ大型のSampleで、どこを供試するかと云う場合には、鰓・体液・内臓などを多く含むように撰ぶのが検出と云う目的からは確実だと云える。

- ト) 種類及び器官による著しい差の外に、水温、水中PCPの濃度、作用していた時間などによっても、体内の濃度はかなり異った様相を示すことになると思われ、又いわゆる個体差でもかなり異って来ると思われる。
- チ) 比較対照して検討するためには、小型魚なら体全体を供試すれば良いが、大型魚では各部位で著しい差があるのでどこか特定の器官を供試するような必要があるかも知れない。
- リ) イケチヨ一ガイの場合は内部の組織は軟弱で、器官別の分布などをくわしく知ることは困難が伴うが、逆に体全体の平均的濃度を知るようにSamplingすることは魚の場合より楽である。
- ヌ) 魚貝を問わず、PCPは体内に集積されて行ってそれが或る量に達してはじめてその個体を死に到らしめるようで、勿論その量は種々の条件で変りはするが、生物体内の濃度から見た致死量・致死体内濃度と云うような考え方を本研究一Ⅱ²⁾に紹介した。事実野外のSampleからは、生きていながら明らかにPCPが検出されることが屢々あり、特にイケチヨ一ガイの場合は良く認められている。この場合200 γ /10 μ 前後以上に達すると致死するものが多く、100 γ /10 μ 程度以下では弱りはするが致死にはいたらないようである。37年度²⁾において直接水蒸気蒸留50 CC 溜取—サフラニン—0法で定量と云う条件で致死体内濃度を研究し回収率は不明乍らその方法では $\geq 100\gamma/10\mu$ 以上に達するとイケチヨ一ガイが致死することを報告した。その後の研究でその方法では真の値の約50%程度を回収していることが判った。本報の値とも良く一致するので、こゝではイケチヨ一ガイの致死体内濃度は約200 $\gamma/10\mu$ 程度と見なされるとして置きたい。

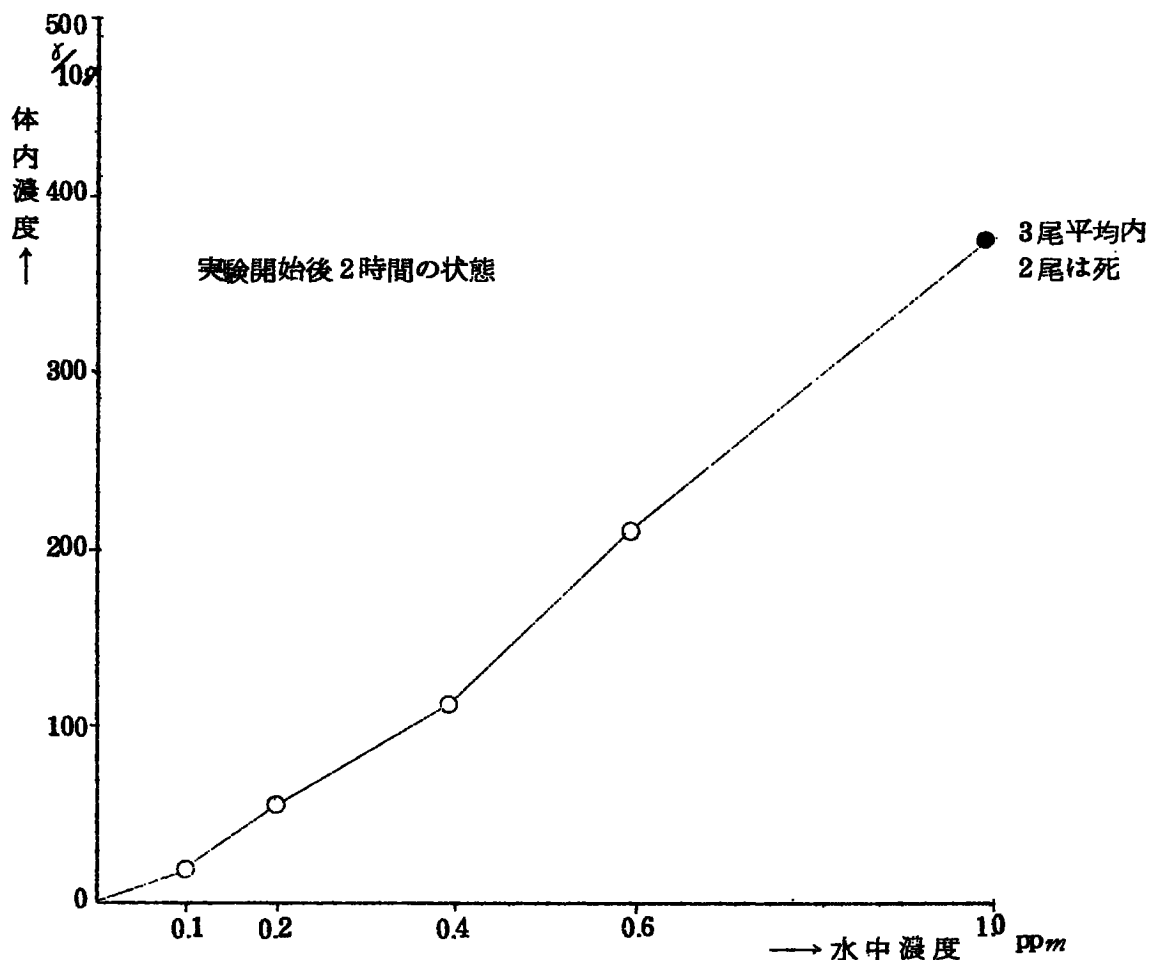
2) 室内実験の結果について

外囲水中のPCPが生物体に摂取吸収せられて体内に集積され、この体内のPCP量が一定量以上に達するとその個体を死に到らしめるのではないかの考えはさきにものべたが、それが実際の上ではどのように表れるかは当然確めねばならない点であろう。

イ) 水中濃度と体内濃度

当然考えられることは、水中のPCP濃度が高ければそれだけ生物体内に入ってゆく速さも

大きくなり、単位時間内に集積される量も多くなるだろうと云う点である。第1図はこのような観点から実験結果を図示したものである。



第1図 外囲水中PCP濃度と体内集積濃度

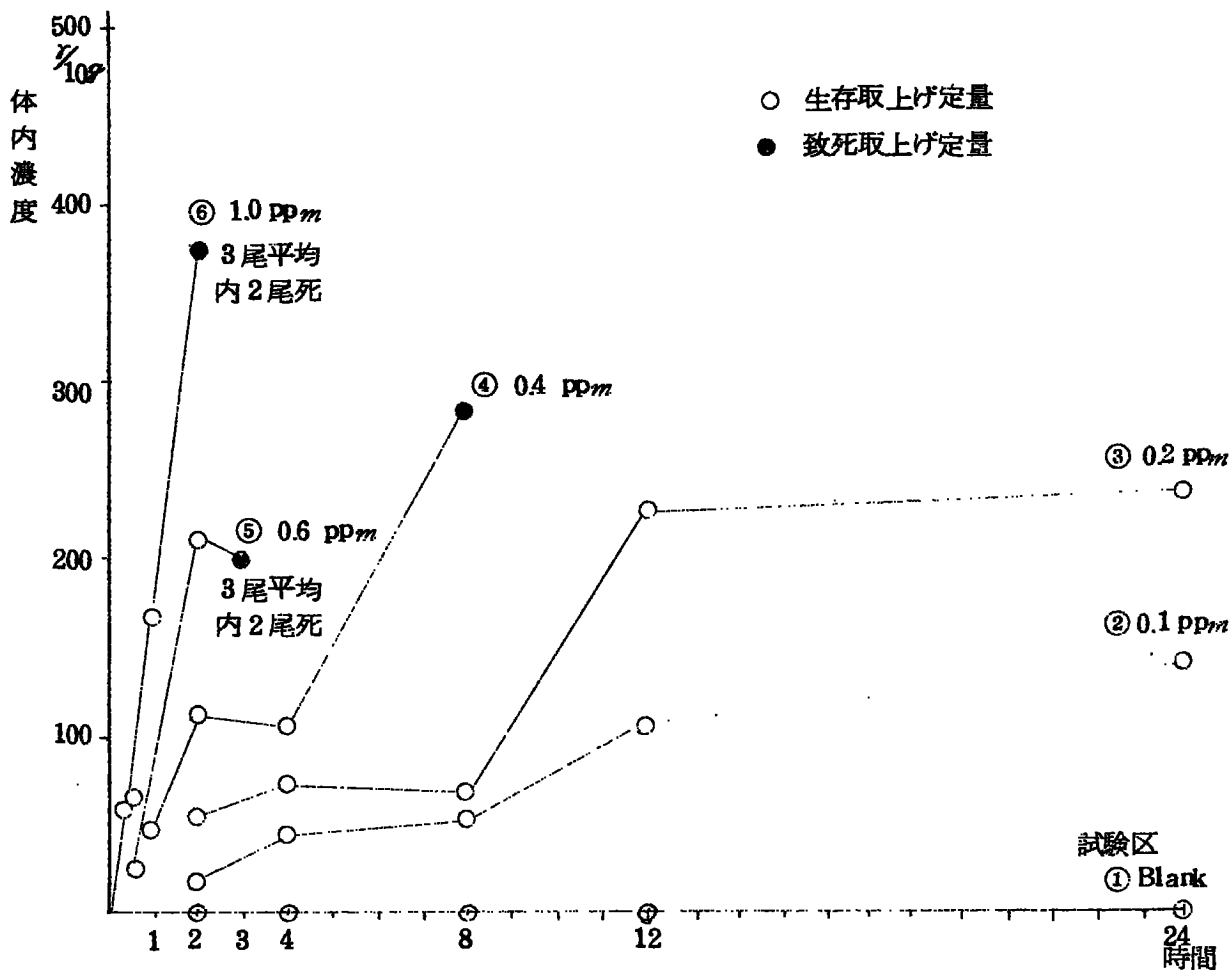
これは、明らかに推測を裏づけるものであり、しかもその関係は、本実験の条件の範囲内ではほぼ直線的に表れている。

ロ) 次に毒性は、毒物の濃度と作用した時間との函数として表れて来ることは多くの毒物について認められている傾向である。このような点から実験結果を図示すると第2図の如くとなる。

当然予想された事乍ら、同一の濃度でも作用した時間が長いと、体内の濃度も比例的に高くなる。しかし、その関係が直線的なものかどうかは更に検討を要すると思う。試験区②及び③の低濃度区では、12時間以後の増加が少なくなっているように思われるがこれが、個体差によるのか、外囲水中のPCPが魚体に吸収されたために起る濃度の低下によるものかこれだけのデータからは判断しきれない。

ハ) 水温は、少なくとも体内に吸収する速度自体にかなりの影響をもつものと推測される。

ニ) 第3表に本実験におけるPCPの量的関係の実測値を示した。各試験区共、開始時のPCP



第2図 PCP-Na 浸漬時間と体内濃度の増加

-Na量は 終了時にはかなり減少して居る。供試水量 40 l, 供試魚 50~100 匹の条件で, 0.1 ppm では 67% が水中から失われ 1.0 ppm でも 9% が失われている。失われた PCP を量的に見ると, 各試験区共かなりよく似た数値となっている。ロ) で述べた試験区②及び③で 12 h 以後の増加が少ないことは, 外囲水中の濃度が 67%~40% も低下した (24 h 後) ためと考えるのも, 充分理由があることであろう。

なお, この実験の魚試魚量の条件は, 一般に生物試験の際要求される $2 \text{ g}/1 \text{ l}$ 以下と云う数値にほぼ見合うものである。

ホ) 外囲水中から失なわれた PCP のうち, かなりの部分は魚体内から回収されている。しかしそれでもなお相当の部分が行方不明である。この部分が魚体内での生化学的変化によって失なわれたものかどうかははっきりしない。これらの点については, 更に精密な実験で確める要がある。

ヘ) 外囲水中の PCP が鯉の体内に入ってゆく速度はかなり大きい。体内に非常に集積され易いものと云える。

ト) 従って短時間の内に PCP は外囲水中の濃度の数 10 倍の高濃度にまで魚体内に集積される

ことになる。

㊦) 個体差は著しいようであるが矢張り致死体内濃度と云うような限界が認められ、従って致死するものは外囲水中のPCP濃度とは外見的には直接の関係なく200~400 μ /10 μ と云う高い体内濃度に達している。コイ稚魚の場合にも一応この200~400 μ /10 μ 程度の値が致死体内濃度と見て良いと思われる。

V 摘 要

PCPの水産被害問題に直面して、筆者は水産生物体内に残るPCPを検出定量することによりその毒性を解明しようとして来たが、こゝには実際の現場調査分析結果と、室内実験結果の中から得た幾つかの知見を述べ参考に供することとした。それらの主な点は以下のとおりである。

- 1) 昭和38年度夏期の現場調査分析結果から、淡水産生物14種類についてPCPによる斃死事故の際の大体の致死時体内濃度を表示し、考察を加えた。
- 2) 大型魚については、各種の器官に分けて分析を行なった結果を記し、PCPの体内における分布につき検討した。
- 3) コイ稚魚を供試魚として室内生物試験を行なって外囲水中のPCPと魚体内への吸収蓄積・浸漬時間と蓄積量の関係更に実測値によるそれらの量的関係などを実験的に明らかにした。

VI 文 献

- 1) 箕田冠一：水産生物の斃死現象に関する研究—V。滋賀県水産試験場研究報告。第19号(本号) 1966
- 2) 箕田冠一：水産生物の斃死現象に関する研究—II。滋賀県水産試験場研究報告 第17号。147—152。1964
- 3) 津田勉・狩谷貞二：魚体中のPCP確認法。日本水産学会誌，vol 29。828。1963
- 4) 箕田冠一：水産生物の斃死現象に関する研究—IV。滋賀県水産試験場研究報告。第19号(本号) 1966