淡水魚および海産魚に対する重金属毒性の相違

誌名	中央水産研究所研究報告
ISSN	09158014
著者名	小山,次朗
発行元	水産庁中央水産研究所
巻/号	10号
掲載ページ	p. 123-133
発行年月	1997年3月

農林水産省農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat



淡水魚および海産魚に対する重金属毒性の相違

小山次朗*

Differences of heavy metal toxicities for freshwater fish and marine fish

Jiro Koyama*

Differences in the susceptibilities to pollutant toxicities among fish species are well known. Especially, the LC₅₀s of cadmium of some marine fish are higher than those of some freshwater fish. In the present study, the heavy metal (Cu, Zn and Cd) LC₅₀s of freshwater fish are compared to those of marine fish and we discuss the causes of these differences.

In freshwater fish, the LC₅₀s observed under 20°C water temperature (WT) and observed under 50 water hardness (WHD) exhibited higher values than above 20°C WT and above 50 WHD. Toxicity tests using freshwater fish are mostly performed in warm water (WT 20-20°C) and soft water. Therefore, the LC₅₀s of freshwater fish observed above 20°C WT and under 50 WHD were compared with those of marine fish. The LC₅₀s of Cu,Zn and Cd for freshwater fish exhibited significantly lower values than those of marine fish. The differences between them seem to be due to the respective calcium and/or magnesium concentrations.

¹⁹⁹⁶年7月11日受理 中央水産研究所業績A第59号

^{*}中央水産研究所環境保全部(Environment Conservation Division, National Research Institute of Fisheries Science, Nagai, Yokosuka, 238-03, Japan)

124 小山次朗

緒言

現在、わが国の魚類を用いた毒性試験法(代表的試験法はJIS K0102 工場排水試験方法、1993)では、主にヒメダカ、コイ等の淡水魚が試験魚となっている。しかし、魚類に対する環境汚染物質の毒性は、淡水魚と海産魚とでは異なることがあり、例えば一部の農薬(特に合成ピレスロイド殺虫剤)では、海産魚に対する急性毒性値が淡水魚より低いことを里見(1991)が報告している。また、田端(1972)は淡水および海水馴致ヒメダカに対する塩化第二水銀、硫酸亜鉛等の急性毒性値が淡水馴致ヒメダカで、アルキルベンゼンスルホン酸の急性毒性値が海水馴致ヒメダカで小さいことを報告している。一方、Voyerら(1979)は、カドミウムの急性毒性値が淡水馴致silversideで高いことを報告している。このような淡水魚と海産魚に対する環境汚染物質の毒性の違いから、海産魚を用いた急性毒性試験法を既に提案した(小山ら、1992;小山、1996)ところである。

本報告では、重金属の淡水魚および海産魚に対する毒性の差が従来からあまり系統的に検討されていないことから、多くの文献調査結果に基づき両者の差を詳細に検討し、さらにその相違の原因について考察を試みることによって、毒性試験を淡水魚および海産魚両方で行う重要性を確認した。

1 重金属の毒性データ

文献調査の結果、淡水魚および海産魚の重金属急性毒性に関して比較的多くのデータが得ら れた銅(以下Cu)、亜鉛(以下Zn)およびカドミウム(以下Cd)について、96時間半数致死 濃度(以下LCso)の比較を行った。調査した文献では温水性淡水魚あるいは冷水性淡水魚を用 い、軟水あるいは硬水によって実験する等、実験条件が異なった場合が多く認められた。また、 用いた試験魚の成長段階、換水方法(流水、半止水あるいは止水式等)等、実験材料あるいは 方法がそれぞれ異なっていた。本報告では、後述するように、水温および試験水の硬度が重金 属の毒性に最も強く影響するものと考え解析を進めた。また、その他の試験条件の影響は比較 的小さいと考え、試験に対するそれらの影響についての検討は行わなかった。それぞれの重金 属のLC∞を、水温、硬度あるいは塩分等の実験条件の差に関係なくまとめるとTable 1に示す とおりとなった。データが多く得られた淡水魚に対するCu、ZnおよびCdのLC50の度数分布 (後述) から判断して、これらのデータが正規分布するか否か判断できなかったため、データ の分布形に関係しないノンパラメトリック検定法の一つであるウィルコクソンの順位検定(以 下、本検定法による)により、危険率(P)<0.05のレベルで平均値の比較を行った。その結果、 Cu、ZnおよびCdの淡水魚に対するLCsoは、海産魚に比較して有意に低いことが分かった。一 方、 $Table\ 1$ に示した海産魚に対する LC_{50} データの変動係数(CV)は、いずれの金属でもほぼ100%以下であったのに対し、淡水魚のそれらは174%以上と高い値を示しており、淡水魚のデータ に大きなばらつきのあることがうかがえた。これは、両者の実験条件の差に大きく起因してい るものと考えられる。つまり海産魚ではほとんどの実験水温および塩分が20~25℃および30~ 35%で比較的一定していたのに対し、淡水魚では実験水温が9~30℃、試験水の硬度が5~37 5とばらつきが非常に大きかったためと考えられた。したがって以下ではこれらの試験条件の 急性毒性値に対する影響を検討しつつ、淡水魚と海産魚に対する重金属毒性の差をさらに詳細 に検討した。

	Cu	Zn	Cd		
freshwater fish	0.59±1.27 (84)*** (0.0087-3.2, 215%)**	7.48±13.0 (49)* (0.066-40.9, 174%)	11.6±26.7 (41)* (0.001-73.5, 230%)		
marine fish	1.79±1.89 (9) (0.113-5.66, 101%)	35.1±29.3 (9) (2.73-83, 83%)	17.8±15.5 (45) (0.65-78, 87%)		

Table 1 Ninety six hours LC₅ss(mg/l) of copper, zinc and cadmium for freshwater fish and marine fish (mean±SD)

なお、本報告で用いたデータの多くは小山(1991)に記載されたものを主に用いた。それぞれ の引用文献は、小山(1991)を参照されたい。

2. 毒性データの解析

淡水魚に対する重金属の LC_{50} には水温および硬度が大きく影響すると考え、淡水魚に対する各重金属の LC_{50} に対する水温および硬度の影響を $Fig.~1\sim6$ により検討した。その結果、Fig.~1、3および5に示すとおり、水温上昇に伴い LC_{50} の増大する傾向が認められた。また、Fig.~2、4および6に示すとおり、硬度の上昇に伴い LC_{50} の増大する傾向が認められた。

以上のような結果から、Table 1に示したデータを以下の基準にしたがってTable 2に示すとおり再度分類した。これによりそれぞれの実験条件で得られた各 LC_{∞} の間に差があるか否かを検討した。なお、水温については一般的毒性試験(APHA,1989;化学品検査協会、1984)で

Table 2 Ninety six hours LC₅₀s (mg/l) of copper, zinc and cadmium for freshwater fish and marine fish (mean ±SD)

	Cu	Zn	Cd
Marine Fish	1.79±1.89 (9)*	$35.1 \pm 29.3 (9)$	$17.8 \pm 15.5 (45)$
Freshwater Fish	$0.59 \pm 1.27 \ (84)^d$	$7.48 \pm 13.0 (49)^{d}$	$11.6 \pm 26.7 (41)^{d}$
Water Temp. ≧20°C	$0.86 \pm 1.83 \ (35)^{c,d}$	$10.5 \pm 15.5 (28)$	$14.8 \pm 30.4 (30)^{d}$
Water Temp. <20℃	0.22 ± 0.26 (46) ^d	$3.56\pm 7.11 (20)^{d}$	$3.52 \pm 7.60 (9)^{d}$
Water Hardness ≦50	0.35 ± 0.76 (29)°,d	$2.05 \pm \ 2.02 \ (31)^{c,d}$	$1.46\pm~0.97~(27)^{\circ}$
Water Hardness >50	0.71 ± 1.46 (55)	$17.8 \pm 17.9 (17)$	$47.6 \pm 40.9 $ (9)
WT≧20℃, WHD<50	0.59 ± 0.95 $(17)^{d}$	$2.58\pm\ 2.20\ (20)^{d}$	$1.51 \pm 0.93 \ (13)^d$
WT<20℃, WHD≥50	0.32 ± 0.27 (30)	8.08 ± 11.3 (7)	14.8 ± 11.7 (2)

a:number of data

^{*:} number of data, **: range and coefficient of variation

a : significantly different from marine fish (P <0.05)

b:significantly different from WT<20°C (P <0.05)

c :significantly different from WHD>50 (P <0.05)

d:significantly different from seawater fish (P <0.05)

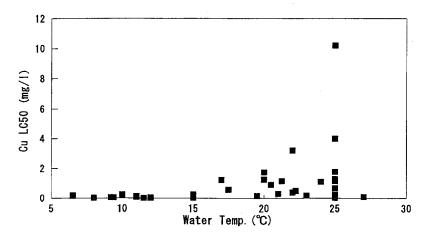


Fig.1 Relationship between water temperature and Cu LC₅₀

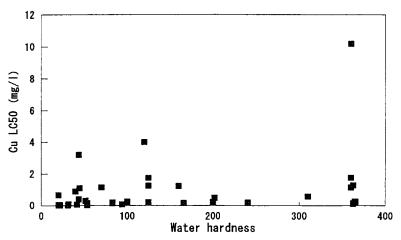


Fig.2 Relationship between water hardness and Cu LC₅₀

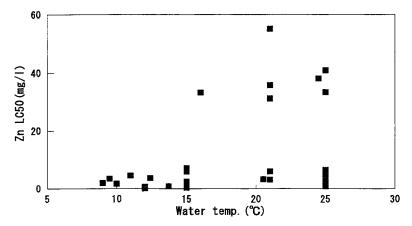


Fig.3 Relationship between water temperature and Zn LC50

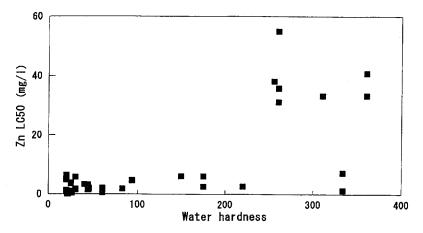
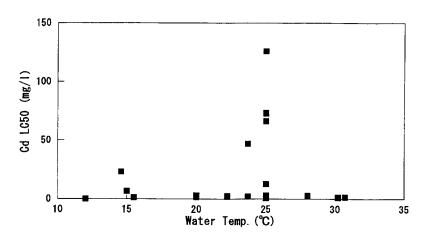
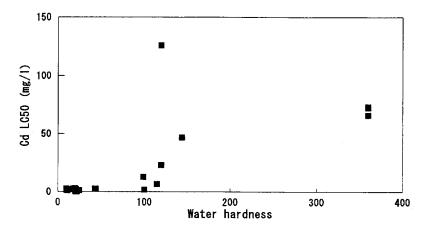


Fig.4 Relationship between water hardness and Zn LC_{50}



 $\textbf{Fig.5} \quad \text{Relationship between water temperature and Cd LC_{50}}$



 ${\bf Fig.6}~$ Relationship between water hardness and Cd ${\rm LC}_{50}$

128 小山次朗

温水魚と冷水魚を分ける20℃を境界とし、<20℃及び \ge 20 の 2 群に分けた。また、硬度についてはStandard Methods(APHA,1989)で淡水魚用人工試験水の硬度が50であることからこれを境界とし、硬度 \le 50および>50の 2 群に分けた。

2. 1 Cu

淡水魚に対するCuのLCsoを、水温<20℃および \geq 20℃の2群に分けた結果をFig.7に示した。水温 \geq 20℃で得られたLCsoは0.3mg/l以下および1mg/l以上を示すデータも多く、ばらつきの大きいことが分かった。一方、水温<20℃で得られたLCsoは、その76%が0.3mg/l以下と比較的低い値を示した。Table 2に示すとおり、水温<20℃および \geq 20℃での淡水魚に対するCuのLCsoは、それぞれ0.22 \pm 0.26および0.86 \pm 1.83mg/lであり、両者の平均値に有意差が認められたことから、Cuの毒性が水温の影響を受けることが考えられた。これらに対し、報告されている海産魚の実験水温のほとんどが \geq 20℃であることから、淡水魚と海産魚の比較は、水温 \geq 20℃のデータで行うことが妥当と考えられた。

Fig. 8 に示すとおり淡水魚の試験水の硬度を \leq 50および>50の 2 群に分けた結果、硬度 \leq 50で得られたLC $_{50}$ の76%が0.1mg/l以下であった。Table 2 に示すとおり、硬度 \leq 50以下および>50で得られたLC $_{50}$ は、それぞれ 0.35 ± 0.76 および 0.71 ± 1.46 mg/lであり、両者の平均値に有意差が認められたことから、Cuの毒性に硬度が影響することが考えられた。わが国の淡水域の硬度がほとんど \leq 50であることから、硬度 \leq 50で得られた値を淡水魚のLC $_{50}$ とし、これらを海産魚のLC $_{50}$ と比較することとした。

以上の結果から水温 \geq 20°C、硬度 \leq 50で得られた淡水魚のCuのLCsoおよび海産魚のCuのLCso 0.59±0.95および1.79±1.89mg/lの比較を行った。その結果、両者間には有意差が認められた。一方、海水中には硬度成分であるCaおよびMgが高濃度に存在しており、したがって硬度成分の影響を考えると硬度>50で得られた淡水魚のLCso 0.71±1.46mg/lと比較することにより、硬度成分の影響を小さくすることができるものと考えた。その結果、両者間に有意差の無いことが明らかになった。

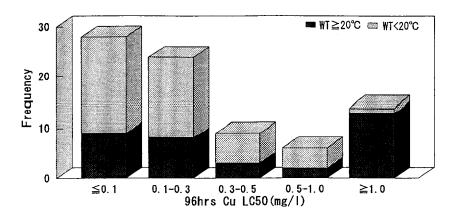


Fig.7 Cu LC₅₀ frequency distribution of freshwater fish related with water temperature

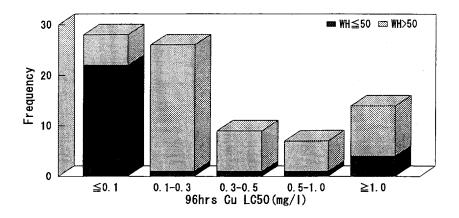


Fig. 8 Cu LC₅₀ frequency distribution of freshwater fish related with water hardness

以上のことから通常の急性毒性試験条件(水温 \geq 20 $^{\circ}$ 、硬度 \leq 50)での比較を行った場合、 淡水魚と海産魚に対するCuのLC $_{\infty}$ の間には有意な差のあることがわかった。また、硬度>50 の淡水魚と海産魚に対するCuのLC $_{\infty}$ の間に有意差は認められなかった。

2. 2 Z n

Table 2に示すとおり、水温<20 \mathbb{C} および ≥ 20 \mathbb{C} での淡水魚に対するZnの LC_{so} はそれぞれ 3.56 ± 7.11 および 10.5 ± 15.5 mg/lであり、両平均値の間に有意差が認められなかった。しかし、Fig.9に示すとおり、水温 ≥ 20 \mathbb{C} で得られたZnの LC_{so} の75%が1mg/l以上であり、Cuと同様に海産魚に対するZnの LC_{so} の多くが20 \mathbb{C} 前後で求められていることから、海産魚のZnの LC_{so} との比較は、水温 ≥ 20 \mathbb{C} で求められた淡水魚のZnの LC_{so} で行うことが妥当と考えた。

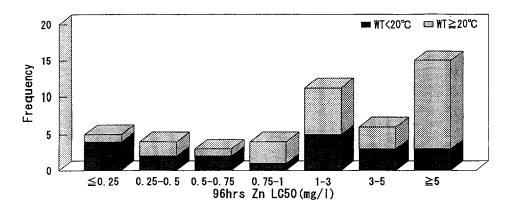


Fig. 9 Zn LC₅₀ frequency distribution of freshwater fish related with water temperature

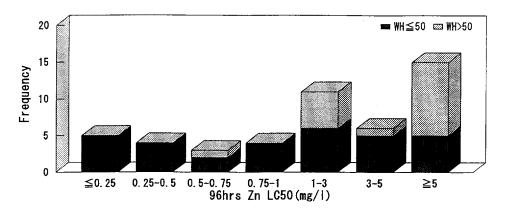


Fig.10 Zn LC_{50} frequency distribution of freshwater fish related with water hardness

次に淡水魚の試験水の硬度を \leq 50および>50の2群に分けた結果をFig.10に示した。硬度 \leq 50で得られたLC $_{50}$ は全体的に分布していたが、硬度>50で得られた値は1mg/l以上にほとんど集中していた。Table 2に示すとおり、硬度 \leq 50および>50で得られたLC $_{50}$ は、それぞれ 2.05 ± 2.02 および 17.8 ± 17.9 mg/lであり、両者間に有意差が認められたことから硬度がZnの 毒性に影響することが考えられた。

以上の結果からCuと同様に水温 \geq 20°C、硬度<50で得られた淡水魚のZnのLC $_{50}$ および海産魚のCuのLC $_{50}$ 2.58 \pm 2.20および35.1 \pm 29.3mg/lの比較を行った。その結果、両者間には有意差が認められた。さらにCuと同様に硬度成分の影響を小さくするため、硬度>50で得られた淡水魚のLC $_{50}$ 17.8 \pm 17.9mg/lと海産魚のそれを比較した。その結果、両者間に有意差は認められなかった。

以上のことから通常の急性毒性試験条件での比較を行った場合、淡水魚と海産魚に対する ZnのLC₅₀の間には有意な差のあることがわかった。また、硬度>50の淡水魚と海産魚に対する CuのLC₅₀の間に有意差は認められなかった。

2.3 Cd

淡水魚に対するCdのLCsoを、水温<20℃および \geq 20℃上の2群に分けた結果をFig.11に示した。水温<20℃で得られたLCsoの56%が0.1mg/l以下であるものの、1−2および5−30mg/lの範囲にも少なからず分布していた。一方、水温 \geq 20℃で得られたLCsoはすべて0.1mg/l以上であった。Table 2に示すとおり、水温<20℃および \geq 20℃での淡水魚に対するCdのLCsoは、3.52 \pm 7.60および14.8 \pm 30.4mg/lであり、両者間に有意差は認められなかった。しかし、Fig.11に示すとおり、水温<20℃で得られたLCsoの56%が0.1mg/l以下であるのに対し、水温 \geq 20℃で得られたLCsoのすべてが0.1mg/l以上であったこと、さらにCuおよびZnと同様、海産魚に対するCdのLCsoの多くが水温20℃前後で求められていることから、海産魚に対するCdのLCsoの比較は、水温 \geq 20℃で求められた淡水魚のCdのLCsoで行うことが妥当と考えられた。

次に淡水魚のデータを硬度≤50および>50の2群に分けた結果をFig.12に示した。硬度≤

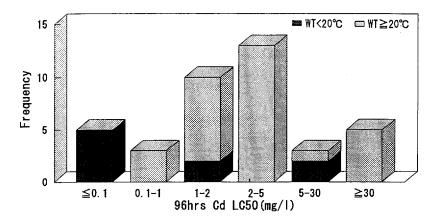


Fig.11 Cd LC_{∞} frequency distribution of freshwater fish related with water temperature

50以下のデータは5mg/l以下であり、一方、硬度>50のデータは5mg/l以上であり、明らかに 硬度が高くなるとCdの LC_{50} が大きくなる傾向が認められた。 $Table\ 2$ に示すとおり硬度 ≤ 50 および>50のCdの LC_{50} は、それぞれ 1.46 ± 0.97 および 47.6 ± 40.9 mg/lであり、両者間に有意 差の認められたことから、硬度がCdの LC_{50} に影響することが考えられた。

CuおよびZnと同様硬度≦50の淡水魚データと海産魚のデータ比較が妥当と考えられた。CuおよびZnと同様に水温≧20℃、硬度<50で得られた淡水魚のCdのLC∞および海産魚のCdのLC∞1.51±0.93および17.8±15.5mg/lの比較を行った。その結果、両者間には有意差が認められた。一方、硬度成分の影響を小さくするため、硬度>50の淡水魚データと海産魚との比較を行った結果、両者間に有意差は認められなかった。

以上のことから通常の急性毒性試験条件での比較を行った場合、淡水魚と海産魚に対する CdのLC₅₀の間には有意な差のあることがわかった。したがって、主に硬度≦50の淡水で試験を

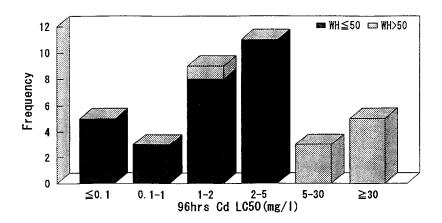


Fig.12 Cd LC_∞ frequency distribution of freshwater fish related with water hardness

132 小山次朗

Table 3	LC ₅₀ s of	heavy	metals i	for	medaka	and	mummichog

fish species	heavy metal	exposure type	exposure period	$\begin{aligned} & freshwater(F) \\ & seawater(S) \end{aligned}$	$\begin{array}{c} LC_{50} \\ (mg/l) \end{array}$	water $temp(\mathcal{C})$	ref
medaka	HgCl ₂	ST*	24hr	F	0.74	25	田端、1972
Or yzias			24hr	S(35‰)	3.2	25	
lati pes	ZnSO ₄	ST	24hr	F	18	25	
			24hr	S(35%)	95	25	
mummichog	$CdCl_2$	FT	96hr	F	2.7	20	Literature
Fundulus			96hr	F	> 2.9	20	Review, 1977
heteroclitus			96hr	F	1.6	20	
			96hr	F	2.3	20	
		ST	96hr	S(20%)	55	20	Eisler, 1971
		ST	96hr	S(20%)	78	17.9	Voyer, 1975
		ST	96hr	S(32%)	30	19.7	

*: ST(static), FT(flow throgh)

行うわが国の毒性試験方法では海産魚との間にCu、ZnおよびCdの毒性試験結果の差は生ずるものと考えられる。

3. 同一魚種間での比較

前項までは異なる魚種間で淡水魚および海産魚の重金属毒性比較を行った。一方、本項では同一魚種で淡水および海水に馴致できる魚種の実験結果の比較を行った。データ数が少なかったため統計的検討は行わなかったが、Table 3 に示すとおり、水銀、ZnおよびCdとも淡水馴致魚に比較して海水馴致魚のLC50がいずれも高かった。塩分を除けば両者の実験条件はほとんど同じであることから両者の差は、前項までに検討したとおり海水中の硬度成分(CaおよびMg)の影響によるものと考えられる。

4. まとめ

淡水魚および海産魚に対するCu、ZnおよびCdの急性毒性の比較を行った。淡水魚では種々の条件で実験を行っていることから、水温(<20°Cおよび ≥ 20 °C)及び硬度(≤ 50 および>50)の影響を検討した。その結果、Cu、ZnおよびCdの LC_{50} が水温 ≥ 20 °C あるいは硬度>50で高くなることが明らかとなった。これらのことから淡水魚に対する重金属の LC_{50} データを水温20°C および硬度50を境界として再分類した。わが国の毒性試験が主に硬度 ≤ 50 の淡水で行われていること、多くの海産魚毒性試験が水温 ≥ 20 °Cで行われていることから、水温 ≥ 20 °Cおよび硬度 ≤ 50 0で得られた値を淡水魚に対する重金属 LC_{50} とし、この値と海産魚に対する重金属 LC_{50} の比較を行った。その結果、いずれの重金属とも淡水魚の LC_{50} が海産魚の値に比較して有意に低い値を示した。一方、硬度成分の重金属毒性に対する影響を小さくするため、硬度>50で得られ

た淡水魚に対する重金属 LC_{50} と海産魚に対する LC_{50} の比較を行ったところ、いずれの重金属でも両者間に有意差は認められなかった。これは海水中のCaなどの硬度成分と重金属が拮抗作用を示し、その結果、海産魚に対する各重金属の LC_{50} が高くなったものと考えられる。また、硬度>50で得られた淡水魚の LC_{50} と海産魚の LC_{50} の間に差の無かったことから、海産魚と淡水魚との間にCu、ZnおよびCdに対する本来の感受性の相違があるとは言えないものと考えられた。

以上のことから、わが国で行われている標準的急性毒性試験(水温≥20℃および硬度≦50)では明らかに淡水魚と海産魚間で重金属毒性が異なり、淡水魚でより低いLC50の得られることが分かった。したがって試験結果に差の存在することから、重金属毒性試験は淡水魚および海産魚で別々に行うべきであろうと結論される。ただし、硬度>50で求められた淡水魚に対する重金属LC50が海産魚のそれと差を示さなかったことから、本来、重金属毒性に対する淡水魚と海産魚の感受性に必ずしも差が存在するとは言えないものと考えられた。

文 献

- APHA-AWWA-WPCF,1989:Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater. 17th ed., American Public Health Association, Washington DC, pp. 8-33 8-38.
- Brungs, W.A., McCormick, J.M., Neiheisel, T.W., Spehar, R.L., Stephen, C.E. and Stokes, G.N., 1997: Effects of pollution on freshwater fish. *J.Water Poll.Cont. Fed.*, 49, 1425-1493.
- Eisler, R., 1971: Cadmium poisoning in *Fundulus heteroclitus* (Pisces; Cyprinodon—tidae) and other marine organisms. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 28, 1225—1234.
- 化学品検査協会,1984: OECD化学品テストガイドラインデータ解釈指針. 第一法規出版株式会社,東京,pp.857-866.
- 小山次朗,1991: 松くい虫特別防除に係る沿岸漁業影響調査報告書(林野庁), pp.185-220. 小山次朗,1996: 海産魚による急性毒性試験法. 水,38(4),61-69.
- 小山次朗・黒島良介・石松 惇,1992:汚染物質毒性評価のための指標海産魚選定.水環境学会誌,15,804-813.
- 日本規格協会,1993: 魚類による急性毒性試験. JIS K0102 工場排水試験方法,日本規格協会,東京,pp.291-294
- 里見至弘,1991:松くい虫特別防除に係る沿岸漁業影響調査報告書(林野庁), pp.109-163.
- 田端健二,1972: ヒメダカを供試魚とする TLm 標準試験法の提案. 用水と廃水, 14, 1297-1298.
- Voyer, R.A., 1975: Effect of dissolved oxygen concentration on the acute toxicity of cadmium to the mummichog, *Fundulus heteroclitus* (L.), at various salinities. Trans. Am. Fish. Soc., 1, 129-134.
- Voyer, R.A., Heltsche, J.F. and Kraus, R.A., 1979: Hatching sucsess and larval mortality in an estuarine teleost, *Menidia menidia* (Linnaeus), exposed to cadmium in constant and fluctuating salinity regimes. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 23, 475-481.