

魚類に対する農薬の影響I.

| | |
|-------|------------|
| 誌名 | 日本水産學會誌 |
| ISSN | 00215392 |
| 巻/号 | 386 |
| 掲載ページ | p. 555-560 |
| 発行年月 | 1972年6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



魚類に対する農薬の影響—I.

二、三の有機リン製剤によるコイの血液
および肝臓成分の変化*

坂 口 宏 海

(1971年11月22日受理)

On the effects of agricultural chemicals upon fish—I.

Changes of chemical components in serum and liver of carp
exposed to organophosphate compounds

Hiromi SAKAGUCHI**

Although on the toxicity of agricultural chemicals upon fishes many studies have been performed, most of them are concerned with the estimation of lethal concentration for test animals. However in the study of notorious effect of these agents upon fish, the physiological changes caused by fairly low concentrations of chemicals should not be overlooked.

The present paper deals with the estimation of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, exposed to diluted organophosphate compounds, marathion, dipterex and DDVP. Fish were kept in 500 l vinyl resin tanks containing different level of diluted chemicals. After 48-hour exposure, the fish were sacrificed for chemical analyses.

In all lots of fish treated with the agricultural chemicals, activities of serum transaminases (GOT and GPT) were elevated and that of cholinesterase was decreased. Changes in serum glucose, triglyceride and total cholesterol content were conspicuous, but there was no remarkable change in protein content.

In DDVP-treated fish, regardless of DDVP concentration, the content of liver glycogen was reduced to three fourths that of control animals. On the other hand, fat content was elevated in the fish kept in 1 ppm solution but lowered in 5 and 10 ppm groups.

最近農薬の種類、使用量などの増加により、これら薬剤によると思われる水産生物の斃死事故がかなり多く発生している。魚類に対する農薬の毒性の研究はこれまでも数多く行なわれてきたが、そのほとんどが致死濃度に関するものである。水産用水基準によれば急性毒成分の許容濃度の多くは、便宜的に 48 hr TLm $\times 0.1$ により推定されているが、その濃度は嫌忌量の測定や病理学的な検査結果などから定めるのが妥当であろう。しかしこのような研究は少なく、コイ¹⁾についての生理、生態学的な研究、サクラマス²⁾についての病理学的研究などがみられるにすぎない。

今回、著者は低濃度の農薬が魚類に与える影響を知るため、コイをマラチオンなど二、三の有機リン製剤の水溶液中で飼育し、その血液におけるトランスアミナーゼ、コリンエステラーゼなどの酵素活性ならびに血液、肝臓の二、三の化学成分の変化を調べ、若干の知見を得たのでここに報告する。

* 本研究の要は昭和 45 年 4 月、日本水産学会年会で発表した。

** 兵庫県立水産試験場 (Fish. Exp. St. Hyogo-ken, Nakasaki-cho, Akashi, Japan)

実験方法

供試魚および飼育法 供試コイ *Cyprinus carpio* は当场養魚場から 1969 年 9-11 月にかけて入手したあと、5-30 日間日本配合飼料 K. K. 製のコイ用ペレット 4 号を与えて飼育したものである。マラチオン* およびディプレックス**溶液による飼育試験には平均体重 70 g 前後のものを、DDVP*** による試験には 180 g のものを使用した。

一試験区を 10 尾とし、1×1×0.5 m (水量 0.5 トン) の塩化ビニール製水槽中で通気しながら試験をした。これらの魚は試験開始の前日まで給餌したが、試験中は無給餌とした。

供試薬剤の濃度 (実効濃度) はマラチオンでは 0, 2 および 5 ppm の 3 段階で、DDVP およびディプレックスではそれぞれ 0, 1, 5 および 10 ppm の 4 段階とした。試験中の飼育水温はマラチオンおよびディプレックスでは 17.5-22.4°C, DDVP では 6.5-9.7°C であった。

化学分析法 試験開始 48 時間後にコイの尾柄部を切断して採血し、直ちに 2,500-3,000 rpm で 10 分間遠心分離して血清を得た。DDVP 処理魚は採血後肝臓を採取した。なお分析に用いた血清および肝臓はいずれも 10 尾から採取した混合試料である。

血清についてはグルコース (OTB 法³⁾、トリグリセライド (アセチル・アセトン法⁴⁾、総コレステロール (ROSENTHAL 法⁵⁾、クレアチニン (FOLIN-WU 法⁶⁾、尿酸 (炭酸ナトリウム法⁷⁾、尿素態窒素 (ジアセチル・モノオキシム法⁸⁾、蛋白量 (ビュレット法⁹⁾) を分析し、トランスアミナーゼ (REITMAN-FRANKEL 法¹⁰⁾、アミラーゼ (ヨード・デンブレン比色法¹¹⁾) およびコリンエステラーゼの三種の酵素活性を調べた。コリンエステラーゼ活性の測定はほぼ *m*-ニトロフェノール法¹²⁾に従ったが、血清添加量を 0.3 ml, 反応時間 2 時間, 反応温度を 30°C に改め、活性は 420 m μ における吸光度で示した。肝臓についてはグリコーゲンを SAM-SEIFTER らのアンスロン法¹³⁾で、脂肪は常法で測定した。

結 果

試験魚の外見的症狀 マラチオン処理魚 2 ppm 区の魚は試験開始約 2.5 時間後に 2 尾が水面に浮上し、活動が不活発となった。6 時間後には全魚の動きが不活発となったが、48 時間後には対照区 (薬剤無添加区) の魚とほぼ同様の泳ぎ方をし、特に異常は認められなかった。しかし薬剤添加区の魚は水槽外に取り出すと、鰓蓋の運動はみられるが、正常魚のような飛びはねる動きはあまりみられなかった。5 ppm 区の魚は 1 時間後に 3 尾が水面で鼻上げ症状を呈し、2.5 時間後には 3 尾が同様の症状を呈したほか、2 尾が水槽の底に横転し、水槽壁をたたくと泳ぎはじめるが、すぐまた横転する状態にあった。4 時間後には 2 尾が横転し、外部からの刺激でもあまり反応を示さなくなった。またこのほかに鰭を曲げてけいれんするもの 1 尾、鼻上げ症状を示すもの 3 尾がみられた。このような症状はかなり持続し、31 時間後でもなお 1 尾が横転していた。48 時間後には 3 尾の泳ぎ方が多少不自然と思われる程度に回復したが、水槽外に取り出すと、その動作は対照区にくらべてかなり弱まっているように思われた。

ディプレックス溶液中で飼育したコイでは特に変化はみられず、10 ppm 区でも外見的には対照区と同様の動作を示した。

DDVP 処理の 1 および 5 ppm 区の魚の行動は対照区とほとんど差はみられなかったが、10 ppm 区の魚は 2.5-8 時間後に非常にはげしいけいれん症状を示した。その症状は約 4 時間後に最もはげしくなり、全魚が平衡を失ない、水槽の底あるいは中層に横転したが、外部から刺激を与えるとすばやく直進し、水槽壁に衝突して再び横転した。このような症状は 10-20 時間後には回復し、その後は外見的には対照区とほぼ

* 0,0-Dimethyl S-(1,2-dicarbo ethoxy ethyl) dithiophosphate.

** 0,0-Dimethyl 2,2-dichlorovinyl phosphate.

*** 0,0-Dimethyl 2,2,2-trichloro-hydroxy ethyl phosphate.

以上 3 種とも日本農薬 K. K. 製, 50% 乳剤。

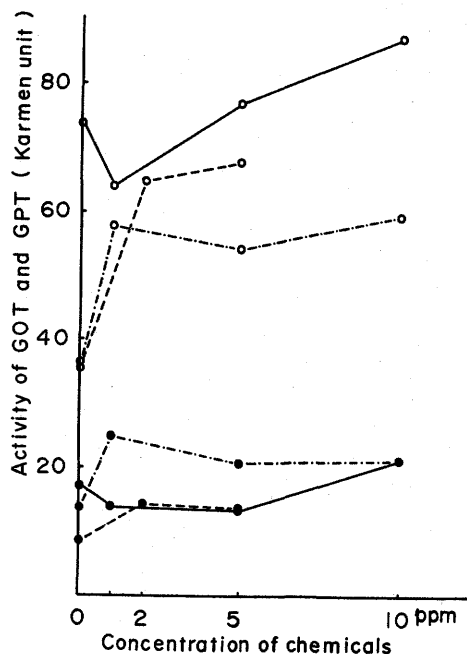


Fig. 1. Changes of serum GOT and GPT activities of carp exposed to 3 kinds of organophosphate for 48 hours.
○: GOT, ●: GPT
—: DDVP, ----: Marathion,
- · - ·: Dipterex.

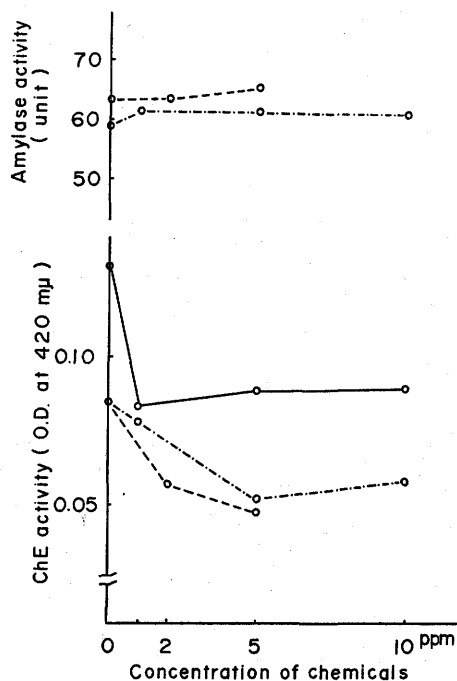


Fig. 2. Changes of serum amylase and cholinesterase activities of carp.
—: DDVP, ----: Marathion,
- · - ·: Dipterex.

同様の泳ぎ方をした。

GOT* および GPT 活性** マラチオンおよびディプレックスを加えて試験したときの対照区のコイの血清 GOT 活性が 36 前後であつたのに対して、DDVP の対照区では 73 を示し、前 2 者にくらべて低水温で大形魚を用いた DDVP 対照区の活性がかなり高い値を示した (Fig. 1)。マラチオン処理魚では 2 および 5 ppm 区でいずれも 65 前後に増加した。ディプレックス処理魚の GOT 活性は 1 ppm 区ですでに 58 に増加し、5 および 10 ppm 区でも同程度の活性を示した。DDVP 処理魚では 1 ppm 区では低下したが、5 ppm 区では増加し、10 ppm 区では 87 まで上昇した。

GPT 活性はいずれの薬剤についても GOT 活性の変化と類似の傾向を示したが、その変化は GOT の場合ほど顕著ではなかつた。

アミラーゼおよびコリンエステラーゼ活性 アミラーゼ活性はマラチオンおよびディプレックス処理のいずれの場合にも対照区の活性と大差はみられなかつた (Fig. 2)。対照区のコリンエステラーゼ活性 (以下 ChE 活性と略記) は GOT 活性と同様に、低水温で大形魚を用いた DDVP 試験群が 0.131 を示したのに対し、マラチオンおよびディプレックス試験群では 0.08 前後とかなりの低値を示した (Fig. 2)。マラチオン処理魚の ChE 活性は 2 ppm 区で 0.057 に、5 ppm 区では 0.047 に低下した。ディプレックス処理魚では 1 ppm 区では大きな変化はみられなかつたが、5 および 10 ppm 区では 0.05-0.06 に低下

* Glutamic-Oxalacetic Transaminase

** Glutamic-Pyruvic Transaminase

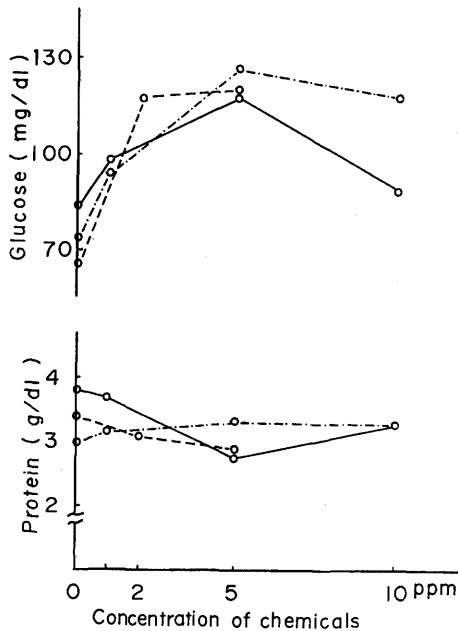


Fig. 3. Changes of serum glucose and protein of carp.

—: DDVP, ----: Marathion,
: Dipterex.

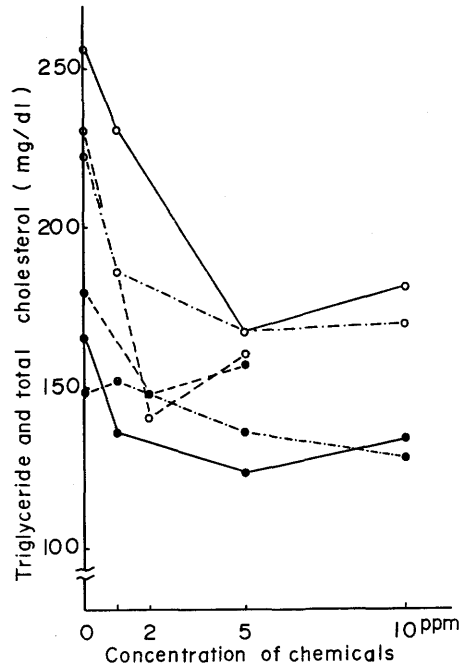


Fig. 4. Changes of serum triglyceride and total cholesterol of carp.

○: Triglyceride, ●: Total cholesterol.
 —: DDVP, ----: Marathion,
: Dipterex.

した。DDVP 処理魚では 1 ppm 区ですでに 0.08 に低下し、5 ppm 以上の濃度においてもほぼ同様の活性を示した。

グルコースおよびタンパク量 対照区のグルコースおよび蛋白量はともに DDVP 処理魚が高値を示した (Fig. 3)。DDVP 処理対照区の血糖値は 84 mg/dl であつたが、1 ppm 区では 98 mg/dl に、5 ppm 区では 117 mg/dl に増加した。しかし 10 ppm 区は 89 mg/dl で対照区の値に近づいた。また血糖値はマラチオン処理魚では 2 ppm 区で、ディプテレックス処理魚では 5 ppm 区においていずれも対照区の約 2 倍に増加した。蛋白量はマラチオン、ディプテレックス処理魚の各試験区では両者とも対照区との差は顕著でなかつたが、DDVP 処理魚では多少差が認められ、対照区では 3.8 g/dl であつたが、5 ppm 区では 2.7 g/dl、10 ppm 区で 3.3 g/dl を示した。

トリグリセライドおよび総コレステロール量 血清トリグリセライド (以下 S. T. G. と略記) も血糖、蛋白量などの場合と同様に DDVP 処理の対照区が高い値を示した (Fig. 4)。DDVP 処理魚は対照区の S. T. G. が 258 mg/dl であつたが、薬剤処理区はすべて減少し、5 ppm 区は 166 mg/dl で最も低い値であつた。マラチオン処理魚では 2 ppm 区が 140 mg/dl に減少し、対照区の約 60% になつたが、5 ppm 区ではわずかに増加した。ディプテレックス処理魚では変化の傾向は DDVP 処理魚のそれに類似している。

総コレステロール量は対照区で 148-179 mg/dl を示し、その変動は S. T. G. の変化とかなり類似した傾向を示したが、その幅は小さかつた (Fig. 4)。

次に尿素態窒素、尿酸およびクレアチニンの変化を調べたが、これらの含量はそれぞれ 1.5-4.1 mg/dl、0.43-0.95 mg/dl、および 0.24-0.62 mg/dl とかなり低く、その変動を明確につかむことはできなかつた。

肝臓グリコーゲンおよび脂肪量 DDVP 処理
 対照区の肝臓グリコーゲン量は 7.8% とかなり高いが、1 ppm 区では 5.9% で最も低く、5 および 10 ppm 区では 6% 台を示した (Fig. 5)。

脂肪量は対照区で 1.7% であった。1 ppm 区では 2.8% に増加したが、5 および 10 ppm 区では 1.2% 前後に減少した (Fig. 5)。

考 察

BENDER¹⁴⁾ はコイの肝臓中に蓄積されるマラチオンの量は他の臓器にくらべて多いと述べている。また低濃度のディプテレックス溶液中で飼育したサクラマスの肝臓には混濁腫脹様変化がみられている²⁾。INU¹⁵⁾ は四塩化炭素で肝臓障害を起こさせたウナギについて、血漿 GOT, GPT 活性などの上昇を認め、これら酵素活性の測定が魚類の肝障害の診断に有効であろうとしている。またラット^{16,17)} では四塩化炭素投与により S. T. G. が減少し、肝臓は脂肪肝を呈するといわれている。これらの事実から考えると、本実験でマラチオン、ディプテレックスおよび DDVP 処理のコイにおいても血清の GOT 活性の上昇、ChE 活性ならびに S. T. G. の減少などがみられたことは、これらの薬剤がコイの肝臓にある程度の障害を与えたものと考えられよう。総コレステロール量は薬剤処理区は対照区にくらべて低下し、その傾向は S. T. G. に似た様相を示した。魚類血液では総コレステロール量の正常値の幅は広く¹⁸⁾、

飼育水温¹⁹⁾ や飼料^{19,20)} によつても変動がみられているが、その生理的意義については明らかにされていない。本実験でみられたコレステロールの減少も上記 S. T. G. 含量, GOT, ChE 活性の変化などと考え合わせると、肝臓のなんらかの機能障害を反映するものとも考えられるが、さらに検討する必要がある。

今回の実験では、薬剤による血清 アミラーゼ活性の増加はみられなかったが、血糖値の変化はかなり顕著で、いずれの農薬によつても血糖値は上昇し、とくに 2 および 5 ppm 区では対照区の約 2 倍に達した (Figs. 2, 3)。血糖値の増減は薬剤による肝機能障害のほか、交感神経の刺激にともなうエピフリン系ホルモンの増加およびインシュリンの拮抗作用などの結果生じるものと考えられている。コイの血糖値はけいれんのはげしい時期に増加がみられている²¹⁾。本実験においても血糖値の上昇は薬剤により供試魚の運動が亢進されたため生じたものと考えられるが、その生理機構については明らかでない。

また DDVP 処理魚においては、肝臓グリコーゲンは血糖値とは反対に減少し、脂肪量も 1 ppm 区を除いて減少を示した (Fig. 5)。YOKOTE^{22,23)} はセコケ病のコイにおいて肝臓グリコーゲン、脂肪の減少ならびに血糖値の増加を認め、藤谷¹⁴⁾ もバルブ廃水中で飼育したコイおよびクロダイについて肝臓グリコーゲンなどの減少から肝機能の低下を推察している。このような血糖値の上昇とは逆に肝臓グリコーゲンが減少することは、なんらかの原因で、肝臓におけるグルコース放出の制約が失われたためと考えられる。肝臓における糖質の合成、分解の機構は単純ではないが、本実験でみられた 5 および 10 ppm 区における肝臓脂肪の減少は、供試魚が薬剤によつて急激に運動が亢進された結果生じた糖代謝により、脂肪が糖質の合成に利用

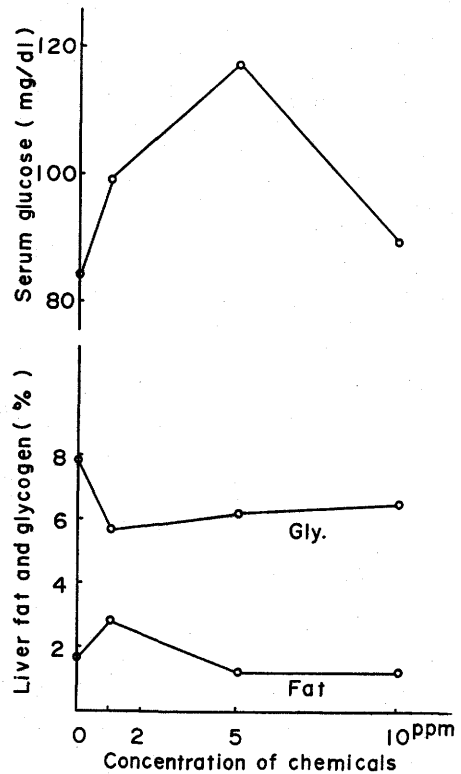


Fig. 5. Changes of serum glucose and liver fat and glycogen of carp exposed to DDVP for 48 hours.

されたものと考えられる。また 1 ppm 区における増加はラットでみられたように S. T. G. の減少^{16,17)}のほか、肝臓グリコーゲンの減少なども関与しているものと考えられるが (Fig. 5), これらの点については今後の検討に待ちたい。

ウナギでは血清中のクレアチニンの量が腎臓障害の判定に有効であると認められているが²⁵⁾、本実験の結果ではクレアチニンのほか、尿素態窒素、尿酸のいずれもその含量が低く、その動向を把握することはできなかった。本臓器の機能判定には血清の電解質、尿の窒素化合物あるいは組織学的な面など他の方法も試みる必要がある。

本実験に使用した3種の農薬の濃度を、西内ら²⁶⁾の2g程度の稚ゴイについての48時間半数致死濃度と比較すると、ディブテックスおよびDDVP処理の1ppm区は1/10、マラチオン処理の2ppm区は1/5となる。したがって本研究はかなり低濃度の実験といえるが、その影響はかなり顕著であつた。一方、コイの薬剤に対する抵抗力は大形魚にくらべて小形魚の方が弱いといわれているので、今回試験した濃度よりさらに低い濃度でも小形魚、特にふ化後まもない稚魚に対してはその生理的影響は無視できないと考えられる。またこれよりさらに低い濃度での長期にわたる飼育実験や、急性毒としては作用しない程度の低濃度の有機塩素剤、重金属塩など魚体内に蓄積される恐れのある薬剤についても今後検討していく必要がある。

終りにのぞみ懇切なるご指導および本稿のご校閲をいただいた香川大学農学部岡市友利博士、東京大学農学部橋本芳郎教授に深く感謝の意を表す。また有益なるご助言をいただいた本場浜口章博士、神戸大学医学部亀野靖郎氏、供試魚を提供していただいた柴田茂主任研究員に厚くお礼申し上げるとに、本実験の実施を許可された井沢康夫場長、竹末敏男課長に深謝する。

文 献

- 1) 石原 忠・保田正夫・田村 修: 長大水産学部研究報告, **24**, 65-78 (1967).
- 2) 横手元義・木村閔男・町田喜弘: 日本水産学会年会講演 (1969).
- 3) 佐々木匡秀: 臨床病理, **12**, 434-437 (1964).
- 4) M. J. FLETCHER: *Clin. Chim. Acta*, **22**, 393-397 (1968).
- 5) H. L. ROSENTHAL, M. L. PFLUKE, and S. BUSCAGLIA: *J. Lab. and Clin. Med.*, **50**, 318-322 (1957).
- 6) R. W. BONSNES and H. H. TAUSSKY: *J. Biol. Chem.*, **158**, 581-591 (1945).
- 7) R. J. HENRY: *Am. J. Clin. Path.*, **28**, 158-160 (1957).
- 8) J. J. COULOMBE and L. FAVREAU: *Clin. Chem.*, **9**, 102-108 (1963).
- 9) 清水文彦監修: 衛生検査技術講座, **7**, 366-367, 医歯薬出版, 東京 (1967).
- 10) S. REITMAN and S. FRANKEL: *Am. J. Clin. Path.*, **28**, 56-63 (1957).
- 11) W. T. CARAWAY: *ibid*, **32**, 97-99 (1959).
- 12) 佐々木匡秀: 臨床病理, **12**, 555-558 (1964).
- 13) S. SEIFTER, S. DAYTON, B. NOVIC, and E. MUNTWYLER: *Arch. Biochem.*, **25**, 191-200 (1950).
- 14) M. E. BENDER: *Prog. Fish-Cult.*, **31**, 155-159 (1969).
- 15) Y. INUI: *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, **19**, 25-30 (1969).
- 16) M. C. SCHOTZ and R. O. RECKNAGEL: *Biochim. Biophys. Acta*, **41**, 151-152 (1960).
- 17) R. O. RECKNAGEL, B. LOMBARDI, and M. C. SCHOTZ: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **104**, 608-610 (1960).
- 18) 田村 修・保田正夫・藤木哲夫: 本誌, **28**, 504-509 (1962).
- 19) T. H. MCCARTNEY: *Cortland Hatchery Report*. No. 33 for the year 1964, 35-41 (1965).
- 20) 坂口宏海・浜口 章: 本誌, **35**, 1207-1214 (1969).
- 21) 坂口宏海: 日本水産学会年会講演 (1970).
- 22) M. YOKOTE: *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, **20**, 39-72 (1970).
- 23) M. YOKOTE: *This Bull.*, **36**, 1214-1218 (1970).
- 24) 藤谷 超: 内水研報, **17**, 1-88 (1962).
- 25) 保科利一: 東京水産大学特別研究報告, **6**, 1-104 (1962).
- 26) 西内康浩・橋本 康: 水産増殖, **16**, 19-26 (1968).