

# 農薬MEP,diazinonのクルマエビ,ガザミ幼生に対する急性毒性

誌名	日本水産学会誌
ISSN	00215392
著者	平山, 和次 玉乃井, 省吾
巻/号	46巻2号
掲載ページ	p. 117-123
発行年月	1980年2月

## 農薬 MEP, Diazinon のクルマエビ, ガザミ幼生に対する急性毒性

平山和次・玉乃井省吾

(1979年7月18日受理)

Acute Toxicity of MEP and Diazinon (Pesticide) to Larvae of Kuruma Prawn *Penaeus japonicus* and of Swimming Crab *Portunus trituberculatus*Kazutsugu HIRAYAMA\*<sup>1</sup> and Seigo TAMANOI\*<sup>2</sup>

For *Penaeus japonicus*, the values of 24 h TLM of MEP and diazinon at about 25°C decreased with the larval development from the highest values of 1.9 ppm and over 20 ppm at nauplius stage to the lowest values of  $(5.0-9.0) \times 10^{-4}$  ppm and  $(2.0-5.0) \times 10^{-2}$  ppm at post larval stage, respectively. Thereafter, 24 h TLM remained almost constant.

For *Portunus trituberculatus*, change of 24 h TLM of each pesticide with larval development had a similar pattern to that for *Penaeus japonicus*. Namely, the value of 24 h TLM decreased from zoea I at the first stage just after hatching, to zoea IV or megalopa, having the lowest values of  $(1.7-5.0) \times 10^{-4}$  ppm on MEP and  $(4.0-15) \times 10^{-3}$  ppm on diazinon, respectively.

Sea water containing each pesticide even at much lower concentration than 24 h TLM had the effect of retarding moulting on larvae.

Any influence of MEP on the oxygen consumption of larvae of *Portunus trituberculatus* was hardly detected during 4 hours of immersion even at almost the same concentration as 24 h TLM.

近年、大量散布された農薬が内湾、沿岸域に流入し、養殖されているハマチやクルマエビなどに被害を与えた例が、静岡県、鹿児島県など各地で報告されている<sup>1,2)</sup>。一方、魚介類に対する毒性の強さによる農薬の分類<sup>3)</sup>は、淡水生物のコイ、ミジンコ類に対する毒性を基準としてなされている。しかし、農薬の毒性は対象生物の種類によつてかなり異なることがあり<sup>4)</sup>、たとえば有機燐系農薬の MEP, diazinon はそれ程毒性の強くない農薬 (B類) に分類されてはいるが、ハマチなどの海産魚に対しては強い毒性を示し、クルマエビに対しても著しく強い毒性を示すことが知られている<sup>2,4,5,6)</sup>。また、成長段階によつても農薬の毒性が異なると考えられるが、これまでの研究はいずれも成体を対象としたものが大部分で、甲殻類の幼生についても孵化直後から各発育段階ごとに毒性を調べた例は見当たらない。

本研究では、クルマエビ、ガザミの幼生に対する有機燐系農薬 MEP, diazinon の急性毒性を各発育段階ごとに調べた。その結果から、農薬に対する幼生の抵抗力の成長に伴う変化を求めた。さらに、脱皮時期のガザミ幼生に対する農薬の毒力をも求め、脱皮する前および後の

幼生に対するそれと比較した。さらに、ガザミ幼生の酸素消費量に与える農薬の影響についても検討した。

## 材料および方法

実験に使用したクルマエビ *Penaeus japonicus* およびガザミ *Portunus trituberculatus* は、1977年と1978年の夏期に熊本県水産試験場大矢野支場で種苗生産されていた健康な各発育段階の幼生である。農薬の MEP\*<sup>3</sup> と diazinon\*<sup>4</sup> は和光純薬(株)製の標準品を用いた。実験に用いた海水は、ガラスフィルター GF/D で吸引濾過し充分に通気しておいたものである。

農薬の毒力は幼生に対する24時間半数致死濃度(24 h TLM)として求めた。MEP, と diazinon をそれぞれエチルアルコールに溶かして5000 ppmの原液とし、それを海水で希釈して5~10段階の濃度の供試液を作成した。これらの供試液中に各発育段階の幼生を10~20個体収容し、24時間後に幼生の生死を判別して生残率を求めた。この結果から DOUDROFF *et al.*<sup>7)</sup> の直線的補間法により各発育段階の幼生に対する24 h TLMを得た。幼生の生死は双眼実体顕微鏡下で心臓の鼓動が確認でき

\*<sup>1</sup> 長崎大学水産学部 (Faculty of Fisheries, Nagasaki University, Nagasaki 852).

\*<sup>2</sup> パシフィック航業 KK (Pacific Aero Survey Co Ltd, 4-10, Higashihiei, Hakata, Fukuoka 812).

\*<sup>3</sup> dimethyl 4-nitro-*m*-tolyl phosphorothionate.

\*<sup>4</sup> diethyl 2-isopropyl-4-methyl-6-pyrimidinyl phosphorothionate.

るか否かにより判定した。なお、海水に幼生を収容した対照区では収容 24 時間後に死亡個体は観察されなかった。また、農薬の分解や容器への吸着については別に実験し、24 時間後に少なくとも 65% の農薬が残存していることが確かめられ、実験中の農薬の減少はあまり大きくないことがわかった。

クルマエビのポストラバ期になつて 7 日目まで、およびガザミのメガロバ期までの実験には 300 ml の供試液を入れた 300 ml 容のビーカーを使用し、クルマエビのポストラバ期になつて 10 日目以後、およびガザミの稚ガニ期については 800 ml の供試液を入れた 1 l 容のビーカーを使用した。クルマエビの実験は 1978 年初夏に行なつた。種苗生産中の飼育水は約 23~25°C に加温されていたので実験水温も 23~25°C に調整した。ガザミの実験は 1977 年と 1978 年の盛夏に行なつた。種苗生産中の飼育水温は調整されず約 27~29°C であつたが、クルマエビの実験と対比するために、実験水温を 1977 年には 23~25°C に、1978 年には 24~26°C に調整して行なつた。種苗生産中の水槽から採つた幼生は、空气中に露出しないように注意して、ナイロン網上で海水により充分に洗い雑物を取り除いた。この幼生を実験水温の戸過海水中に 1~2 時間収容し馴致した後 2 群に分け、それぞれ、MEP, diazinon の実験に供した。各期幼生に対する 24 hr TLm を求めるためには実験中に脱皮しない時期の幼生を用いるように努めたが、初期幼生、特に孵化後短時間に脱皮を繰り返すクルマエビのノープリウス期では実験中に一部が脱皮することは避けられなかつた。

甲殻類の農薬などに対する抵抗力は脱皮時期とその前後の脱皮しない期間とで異なる可能性がある。そこで、比較的容易に脱皮時期を予測できるガザミ幼生を用いて、脱皮時期幼生に対する農薬の毒力を検討した。脱皮時期のガザミ幼生を MEP, diazinon の各濃度段階の希釈海水中に収容し、24 時間後の生残率を求めた。同時に、各供試液ごとに幼生が脱皮を完了しているか否かを観察し脱皮率をも求めた。脱皮時期とは対照として戸過海水に収容した幼生が収容 24 時間後に全部脱皮を完了していた時期のことである。

さらに、ガザミ幼生の酸素消費量に与える MEP の影響を検討した。各濃度段階の MEP 希釈海水に各発育段階のガザミ幼生を収容して酸素消費量を測定し、その値を海水中(対照)での酸素消費量と比較した。酸素消費量の測定は、IKEDA<sup>9)</sup> が動物プランクトンの呼吸速度を測定するのに用いた water bottle 法<sup>9)</sup> によつて行なつた。詳細な実験方法についてはガザミ各期幼生の酸素消費量を求めた報告<sup>10)</sup> に記述してある。実験水温は調整せず、種苗生産中の飼育水と同じ 29.0~31.5°C であつた。幼生が MEP 希釈海水に被曝していた時間、酸素消費量測定用の容器に幼生を収容し流水にしていた時間と、酸素消費量を測定するために止水にしていた時間とを通算し約 4 時間であつた。なお MEP のみに起因する溶存酸素の減少がほとんどないことは別に確めた。

## 結 果

クルマエビ MEP および diazinon の 24 h TLm の成長に伴う変化をそれぞれ Fig. 1, Fig. 2 に示した。

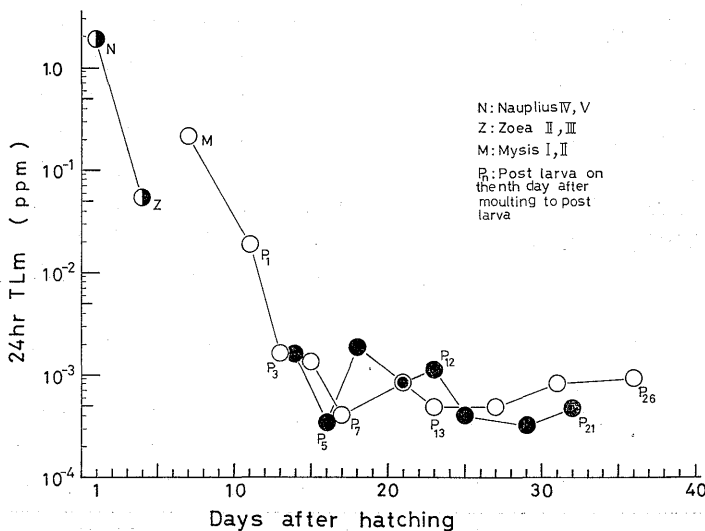


Fig. 1. Change of 24 h TLm of MEP for larvae of *Penaeus japonicus* with larval development. Symbols represent the larvae sampled from each culture of hatchery tanks.

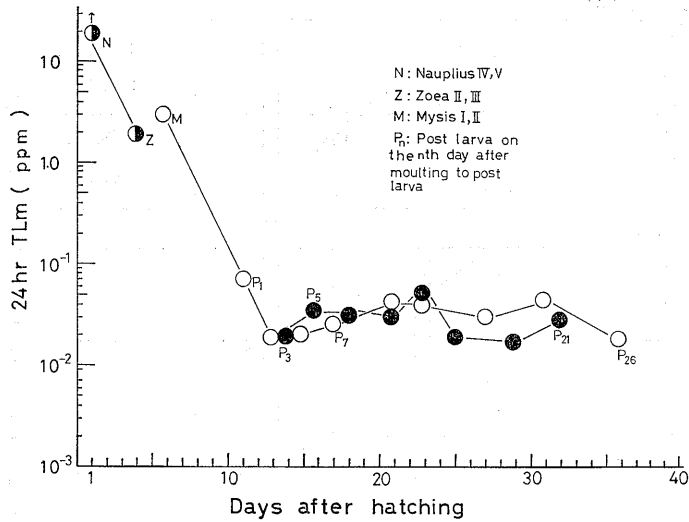


Fig. 2. Change of 24 h TLm of diazinon for larvae of *Penaeus japonicus* with larval development. Each symbol represents the larvae from the culture symbolized by the same mark in Fig. 1. Arrow means the concentration more than 20 ppm.

MEP のノープリウス期に対する 24 h TLm は 1.9 ppm で全成長期間を通じて最大であつた。以後、成長するにつれて小さくなり、ポストラーバ期になつて 5~7 日目の幼生で最小値 ( $4.0 \times 10^{-4}$  ppm) を示し、その後は  $(5.0 \sim 9.0) \times 10^{-4}$  ppm とほとんど変化がなかつた。

ノープリウス期に対する 24 h TLm はポストラーバ期に対するその 1000 倍以上も大きい。

diazinon は 20 ppm 以上の濃度では供試液が白濁してしまうため、ノープリウス期に対する 24 h TLm は測定が不可能であつた。しかし、20 ppm でもノープリウス期幼生の 90% 以上が生存していたので 24 h TLm は

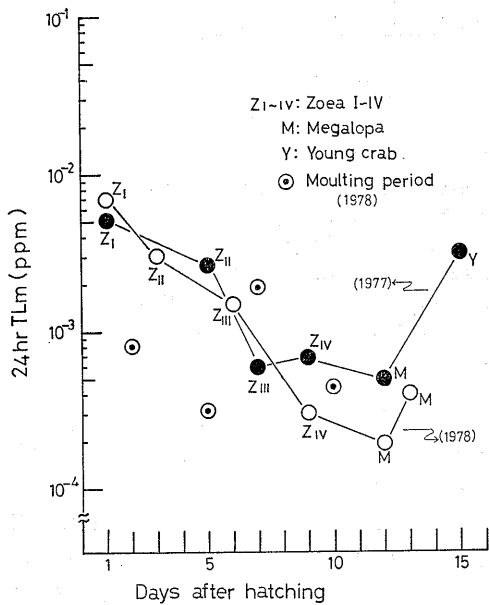


Fig. 3. Change of 24 h TLm of MEP for larvae of *Portunus trituberculatus* with larval development. Moulting period is defined as the developmental stage in which the larvae have all moulted in sea water without any pesticides in 24 hours.

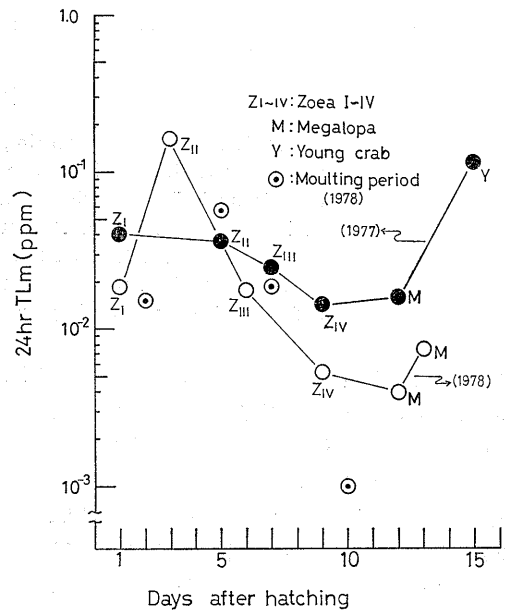


Fig. 4. Change of 24 h TLm of diazinon for larvae of *Portunus trituberculatus* with larval development. Explanation of symbols is in Fig. 3.

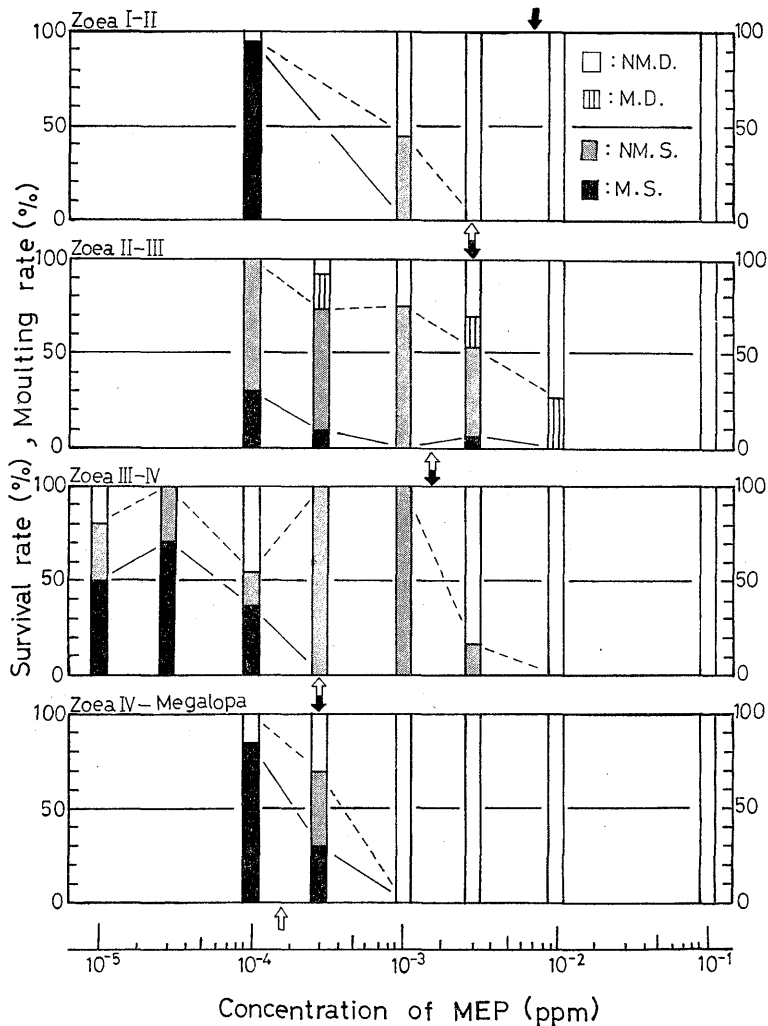


Fig. 5. Survival rates and moulting rates of larvae of *Portunus trituberculatus* in the moulting period, after 24 hours from immersion in sea water containing MEP at various concentrations (1978). Definition of moulting period is in Fig. 3. M.S.: moulted and survival. NM. S.: not moulted and survival. M.D.: moulted and dead. NM. D.: not moulted and dead. Black and white arrows represent 24 h TLm for larvae at the stages just before and after moulting, respectively.

20 ppm 以上である。その後の各期の幼生に対する 24 h TLm は、MEP の場合と同様に成長するにつれて小さくなり、ポストラバ期になって 3 日目頃に最小値を示し、それからは  $(2.0 \sim 5.0) \times 10^{-2}$  ppm でほとんど変化がなかった。diazinon の場合もノープリウス期に対する 24 h TLm はポストラバ期に対するその 1000 倍以上も大きかった。このように MEP と diazinon の 24 h TLm の成長にともなう変化はほぼ同様な傾向を示した。しかし、diazinon は MEP に比べ、その毒力は小さく、ポストラバ期になって 1 日目 (P<sub>1</sub>) を除く発育段階では、その 24 h TLm は 10 倍以上も大きかった。

ガザミ MEP, diazinon の 24 h TLm の成長に伴う変化をそれぞれ Fig. 3, Fig. 4 に示した。その傾向はクルマエビの場合とほぼ同様である。

MEP のゾエア I 期に対する 24 h TLm は  $8.2 \times 10^{-8}$  ppm (1977 年),  $5.2 \times 10^{-8}$  ppm (1978 年) であったが、それ以後成長するにつれて小さくなり、メガロバ期に対するそれは  $5.0 \times 10^{-4}$  ppm (1977 年),  $1.7 \times 10^{-4}$  ppm (1978 年) と最小値を示した。以後、24 h TLm は増大し、稚ガニ期 (孵化後 15 日目) に対するそれは  $3.2 \times 10^{-3}$  ppm (1977 年) となった。

diazinon のゾエア I 期に対する 24 h TLm は  $4.0 \times$

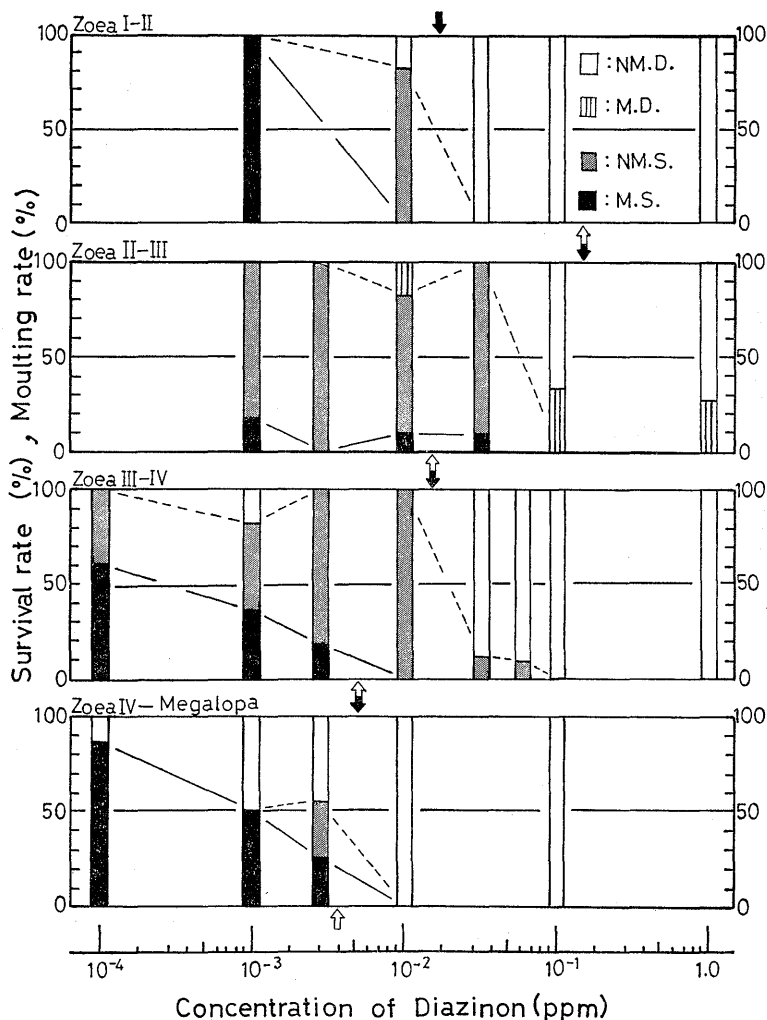


Fig. 6. Survival rates and moulting rates of the larvae of *Portunus trituberculatus* in the moulting period, after 24 hours from immersion in sea water containing diazinon at various concentrations. Explanation of symbols is in Fig. 5.

10<sup>-2</sup> ppm (1977 年), 1.8×10<sup>-2</sup> ppm (1978 年) であつた。その後、1978 年の実験でのゾエア II 期の場合を除いて、MEP の場合と同様に成長するにつれて 24 h TLm は小さくなり、1977 年の実験ではゾエア IV 期に、1978 年ではメガロパ期に、最小 [1.5×10<sup>-2</sup> ppm (1977)、4.0×10<sup>-3</sup> ppm (1978)] となつた。以後は MEP と同様増大し、稚ガメ期 (孵化後 15 日目) に対するそれは 1.1×10<sup>-1</sup> ppm (1977) であつた。

このように、ガザミの場合も、24 h TLm の成長に伴う変化は 2 種の農薬でほぼ同様の傾向を示した。しかし、その毒力は、diazinon の方がどの発育段階でも小さく、24 h TLm は 10 倍も大きかつた。

**ガザミ脱皮時期幼生** 1978年に求めた MEP, diazinon の脱皮時期幼生に対する 24 h TLm は、脱皮前および

後の発育段階の幼生に対するそれとともに Fig. 3, Fig. 4 に併示した。また、MEP, diazinon の各濃度段階の希釈海水に脱皮時期幼生を収容し、24時間経過後に観察した生残と脱皮の様子は Fig. 5, Fig. 6 にそれぞれ示した。図にみられるように、脱皮時期幼生に対する 24 h TLm は脱皮前後の発育段階の幼生に対するそれよりも高濃度の場合もあつた。しかし、農薬を含まない海水中 (対照) ではすべて脱皮を完了しているのに対して、Fig. 5, Fig. 6 にみられるように 24 h TLm よりもかなり低い濃度の供試液中でも脱皮せず、もとの発育段階にとどまっている個体が多数みうけられた。

**ガザミ幼生の酸素消費量** 1978年に求めた MEP 希釈海水でのガザミ幼生の酸素消費量は各発育段階ごとに Fig. 7 に示した。図には別に求めた前述の 24 h TLm

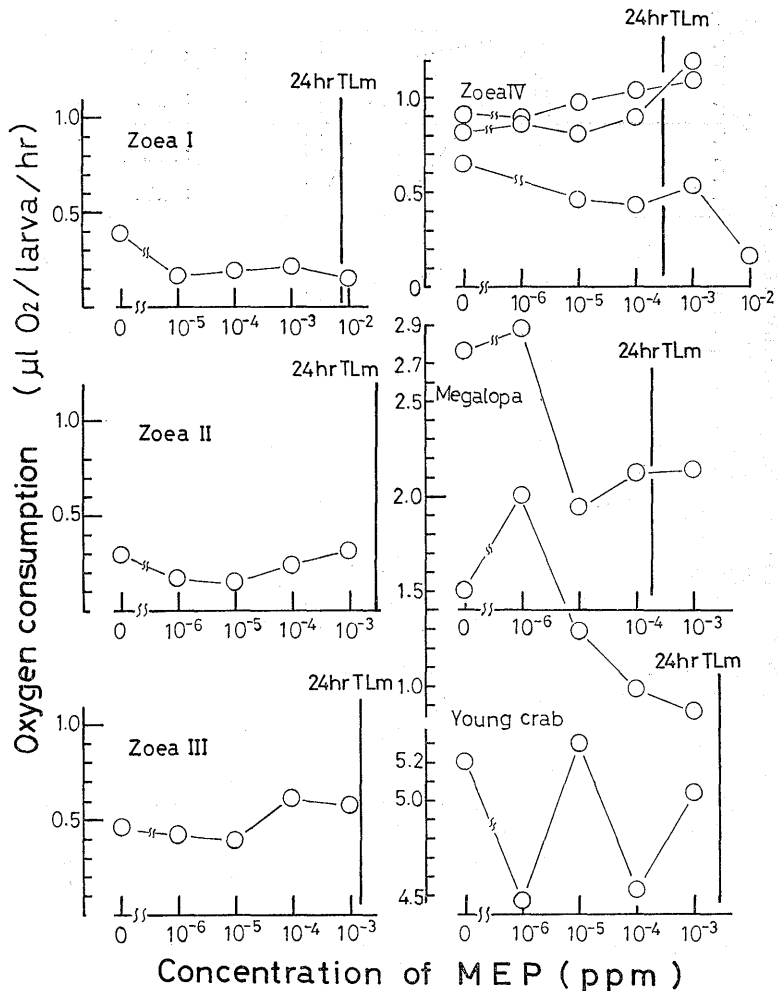


Fig. 7. Oxygen consumption of larvae of *Portunus trituberculatus* during 24 hours immersion in sea water containing MEP at various concentrations.

も示してある。稚ガメ期については 1978 年には 24 h TLm を求めなかつたので、1977 年の値を記入してある。図にみられるように MEP 希釈海水中に収容後 4 時間程度なら、24 h TLm とほぼ等しい濃度でも、すべての発育段階において、幼生の酸素消費量は対照とした海水中のそれと顕著な差は認められなかつた。また酸素消費量と MEP 濃度との間に一定の関係をみいだすことはできなかった。

### 考 察

有機燐系農薬の MEP, diazinon はクルマエビ、ガザミ幼生に対して強い毒力を示すことがわかつた。また、24 h TLm の値から判断して、MEP の毒力が diazinon のその約 10 倍強いことがわかつた。

クルマエビでは、孵化直後のノープリウス期の幼生は 2 種の農薬に対して抵抗力が著しく大きい、成長する

につれてその抵抗力は小さくなり、ポストラーバ期の幼生の抵抗力が最小で、それ以後の幼生ではあまり変化しない。クルマエビ稚仔に対する MEP の 24 h TLm は  $1 \times 10^{-3}$  ppm<sup>9)</sup> 又は  $4.0 \times 10^{-4}$  ppm<sup>11)</sup> との報告があり、diazinon の 24 h TLm も 0.123 ppm との報告がある<sup>9)</sup>。これらの値は本実験で得られたポストラーバ期の幼生に対する MEP の 24 h TLm [(5.0~9.0)  $\times 10^{-4}$  ppm], diazinon の 24 h TLm [(2.0~5.0)  $\times 10^{-2}$  ppm] と大きな差はない。このことから、これら農薬に対するクルマエビの抵抗力はポストラーバ期以後は成体を含め大きくは変化しないと思われる。

クルマエビ幼生の無機態窒素に対する抵抗力は孵化直後のノープリウス期が最も大きく、孵化後数日を経過したものが小さいことがわかつている<sup>12)</sup>。この傾向は、本実験での農薬に対する抵抗力の成長ともなる変化の傾向とほぼ一致している。また、ガザミでは、無機

態窒素に対する抵抗力は幼生の全発育段階を通じて大きな変化がない<sup>12)</sup>のに対し、MEP, diazinon に対する抵抗力はゾエア I 期が大きくゾエア IV 期からメガロバ期にかけて最小となる。この点、本実験の結果と無機態窒素の結果とは幾分異なっている。また、脱皮時期のガザミ幼生に対する MEP, diazinon の 24 h TLm は脱皮より前または後の時期の幼生に対するそれより大きくあつかも脱皮時期に抵抗力が増大するかのように見える場合があつた。このことは無機態窒素の脱皮時期幼生に対する 24 h TLm が脱皮前後の時期の幼生に比べ著しく小さいこと<sup>12)</sup>と非常に異なっている。しかし、24 h TLm よりもかなり低濃度の農薬でも脱皮が遅れる傾向がみられ、脱皮を阻害する作用をもつことがわかつた。

ガザミ幼生の酸素消費量は 24 h TLm の濃度の MEP 希釈海水中でも、対照とした河過海水中のそれと大きな差がなく、また MEP 濃度と酸素消費量との間に一定の関係が認められない。このことから、MEP 希釈海水に幼生を収容してから少なくとも 4 時間の短時間ならば、たとえ 24 h TLm の濃度でも MEP の影響が幼生の酸素消費量に発現しないことがわかる。

本実験の結果から、MEP, diazinon のクルマエビ、ガザミ幼生に対する急性毒性については知ることができた。24 h TLm の測定にあたり、検鏡の結果からは生存と判定されてはいても、かなり弱っている個体が多くみうけられ、それらは正常海水に戻しても回復不能であつた。このような一度農薬に被曝した個体の後遺症や、低濃度の農薬の慢性的毒性などについては、本実験では明らかにならされておらず、今後の研究課題として残されている。

## 謝 辞

この研究を行うにあたり、実験室の使用を許され、実験材料を豊富に提供して下さい、有益な御助言をいただいた熊本県水産試験場大矢野支場の職員の方々と農薬の分析を御指導下さつた長崎県衛生公害研究所の桑野紘一氏に厚く感謝する。

## 文 献

- 1) 西尾 建: 生態化学, **1**, 131-148 (1978).
- 2) 弟子丸 修・岩田 治郎・黒木克宣・新谷 寛治: 鹿児島県水産試験場報告書(昭和51年度)。調査部編, 39-53 (1978).
- 3) 西内康浩: 生態化学, **1**, 37-41 (1978).
- 4) 馬場啓輔・奈良正人・岩橋義人・佐々木 正・大須賀穂作: 静岡水試研報, **11**, 51-58 (1977).
- 5) 奈良正人・中川征章・渡 修明: 静岡県水産試験場事業報告(昭和52年度), 98-100 (1978).
- 6) 広瀬慶二・橘川宗彦: 東海水研報, **84**, 11-20 (1976).
- 7) P. DOUDOROFF, and M. KATZ: *Sewage Ind. Wastes*, **23**, 1380-1397 (1951).
- 8) T. IKEDA: *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **22**, 1-97 (1974).
- 9) 大森 信・池田 勉: 動物プランクトン生態研究法, 共立出版, 東京, 1976, 145-151.
- 10) 玉乃井省吾・平山和次・岡 正雄: 長崎大学水産学部研究報告, **47**, 21-26 (1979).
- 11) 鹿児島県水産試験場: 日本水産資源保護協会・月報, **151**, 4-6 (1977).
- 12) 馬渡健二・平山和次: 長崎大学水産学部研究報告, **39**, 1-6 (1975).