

## 有機リン系農薬MEPのコイに対する急性毒性

根本 孝

### Acute toxicity test of organophosphate pesticides, MEP in younger carp, *Cyprinus carpio*

Takashi NEMOTO

Key Words : acute toxicity, organophosphate pesticide, insecticide, MEP, carp

#### Abstract

Experiments were conducted to determine the acute toxicity of organophosphate pesticides, MEP in younger carp, averaged total length is 143 mm, according to the guidelines for the acute toxicity testing of chemical by OECD. These LC50 is estimated to 6.78 ppm and NOEC is estimated to 2 ppm. Exposed carp show signs of hyperactivity. Other gross signs include a rough texture, overproduction of mucus on the skin and haemorrhages on the abdominal skin and abdominal cavity.

#### はじめに

農薬の魚類に及ぼす急性毒性については、農薬毎にその評価がされているが、その供試魚は共通の試験方法によって全長 3cm から 5 cm 程度（魚体重で 0.5 g から 1.5 g に相当）の小型のコイ *Cyprinus carpio* によって行われている（OECD1992, 農水省 2000）。一方、天然水域でへい死魚が発見される場合は、視認性の違いからそれよりも大型の個体である場合が多い。

急性毒性の評価では半数致死濃度によって判定されるが、農薬暴露にともなうへい死にいたる状況の知見は少ない。このため、天然水域で発見されやすい比較的大型の個体についても、農薬による急性毒性の反応を把握する必要がある。

そこで、比較的大型のコイ稚魚（当歳魚）に対する農薬の急性毒性について知見を得る目的から、有機リン系殺虫剤の一つであるMEPを有効成分とする農薬を用いた試験を行ったので報告する。

#### 材料および方法

供試薬剤は有機リン系殺虫剤の MEP (dimethyl-4-nitro-m-tolylphosphorothionate) を有効成分とするスミチオン乳剤である。供試魚は、その大きさ（平均±標準偏差）を全長 (143.3±9.5 mm) , 体長 (113.6±8.6 mm) , 体重

(39.5±7.4 g) とするコイ *Cyprinus carpio* とした。

試験は、供試魚の大きさや収容密度を除いて、基本的に OECD テストガイドライン(OECD1992) および農林水産省の農薬の登録申請に係る毒性試験（農水省 2000）に準じて行った。収容水槽は 60 リットル容積のガラス製水槽で、飼育水量を 40 リットルとし、水温 20℃で一定に保った中に供試魚を収容した。各水槽には供試魚を 10 尾ずつ収容した。飼育用水は地下水を用い、止水状態で通常の通気を行った。供試個体は、内水面水産試験場で産卵ふ化した同腹のコイで、ふ化後 9 ヶ月間、霞ヶ浦の湖水を導入した場内の屋外試験池で生残したものである。

供試魚は試験開始前 10 日間、水温を 20 °C に保った流水下の試験区水槽で順化させた。順化時から試験終了時まで無給餌とした。照明は 12D-12L とした。試験区は対照区を含めて 12 区設定した。試験区の濃度は、スミチオン乳剤の MEP の有効成分濃度で、小さい方から順に 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 20, 32, 128 ppm および供試薬剤を含まない対照区とした。

試験液の調整は 40 リットルの飼育水にコマゴメピペットで所定濃度となるようスミチオン乳剤を滴下し、通気で生じる水流により攪拌、溶解させた。暴露開始後は、30 min, 1 h, 2 h, 5 h, 8 h 経過時に供試魚の状態を観察したほか、その後は 96 h 経過まで適宜観察した。なお、24 h, 48 h, 72 h, 96 h 経過時点でのへい死尾数を計数した。へい死魚は速やかに取り除いた。またへい死魚は解剖観察を行った。

## 結 果

### (1) へい死発生状況

試験中の水温は  $19.7 \pm 0.4^\circ\text{C}$  で推移した。MEP 濃度別の時間経過に伴うへい死尾数の推移は表 1 のとおりであった (表 1)。

表 1 MEP 濃度別へい死尾数の時間経過

Table 1 Changes in the number of deaths by comparing the concentration of MEP

Exposing time(h)	Concentration of MEP (ppm)											
	0	1	2	4	5	6	7	8	10	20	32	128
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
2	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	10
3	0	0	0	0	0	4	0	7	0	0	10	10
5	0	0	0	0	0	4	0	7	0	0	10	10
8	0	0	0	0	0	4	0	7	0	10	10	10
24	0	0	0	0	0	4	1	10	10	10	10	10
48	0	0	0	0	0	4	1	10	10	10	10	10
72	0	0	0	0	2	4	1	10	10	10	10	10
96	0	0	0	0	2	4	1	10	10	10	10	10
Ratio of survive (%)	100	100	100	100	80	60	90	0	0	0	0	0

へい死に至る状況は、MEP 濃度 32 ppm および 128 ppm 区では試験開始後 10 分程度で供試魚ははげしく狂奔遊泳ををはじめた。狂奔遊泳の程度は水面から上に飛び出すかのごとく激しく動く供試魚もみられた。暴露開始 30 分後には全数が水底に横たわった。横臥した供試魚の鰓蓋の動きはわずかに開閉の動作がみられた程度であった。両区とも暴露開始 1 時間後には全身の動きが停止して水底に横臥し、全数のへい死が確認された。

20 ppm 区においても暴露開始後 2 時間程度でほとんどの供試魚が水底にひん死状態で横臥した。ひん死個体は、わずかに鰓蓋が動くだけで横臥しているが、水槽を指でたたく程度の振動、音に非常に敏感に反応して、鋭敏な動きを一瞬みせた。しかしすぐに再び横臥したものが多かった。これらは 24 時間以内に全数がへい死した。

試験区濃度の低下とともに 96 時間後までの生残率は上昇する傾向がみられた。しかし、生残魚の遊泳行動を観察すると、動きは極めて緩慢で、横臥しないものの水底の隅部で静止状態または水面近くで漂う状態であった。それらも振動や音に敏感に反応した。一方対照区では、このような遊泳状態はまったくみられず、同様の振動や音にも鋭敏な反応は示さなかった。観察から、対照区の遊泳状況とほぼ同じと判断できた試験区は MEP 濃度 2 ppm 区以下の試験区であった。

供試薬液の濃度 (有効成分濃度) と生残率の関係を片対数グラフにとり、供試薬液濃度を片対数に、96 時間後の生残率を普通目盛りとして、半数致死濃度 (LC50) を求めた (図 1)。

半数致死濃度は次の方法により算出した。グラフ上の各点のうち、濃度の低い方から連続して生残率 100% を示した最大の濃度区 (MEP 4 ppm 区) から、連続して生残率 0% を示した最小の濃度区 (MEP 8 ppm 区) までの 5 点を抽出し、5 点での対数近似を求め、生残率 50% 時の濃度を LC50

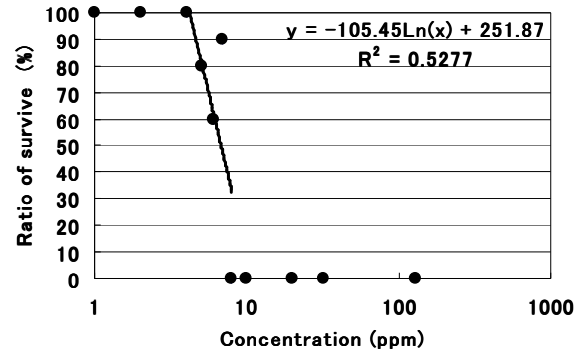


図 1 MEP 濃度と 96 時間後の生残率の関係

Fig.1 Relationship between survival rate after 96 hours of exposure and the concentration of MEP

とした。その結果、 $LC_{50}=6.78 \text{ ppm}$  ( $r=0.725$ ) となった。この値は図からみる限りダートドロフの方法によってもほぼ一致しているといえる (農林水産省 1965)。しかし今回は MEP 7 ppm 区と 6 ppm 区が生残率が逆転したことからダートドロフの方法にはよっていない。

### (2) へい死魚の外観症状

へい死魚の外観症状は、鰓蓋の開閉部基部付近であって下顎下面の基底部端部の両側二箇所に出血斑が認められた。この出血斑は MEP 12 ppm 区以上でのへい死魚では極めて明瞭に認められたほか、鰓出血もみられた。へい死が認められた全ての区で、へい死魚の多くに腹部発赤または肛門出血もみられた。また、体表粘液量の増大も認められた。さらに、MEP 12 ppm 区から 20 ppm 区では、多くの個体で体表にスレ症状が認められた。また眼球突出もみられ、両方の症状が認められるものもあった。いずれのへい死魚の外観体型は、狂奔的な遊泳を示した個体であっても、体幹屈曲などの異常はみられなかった。

### (3) へい死魚の解剖所見

へい死魚の解剖所見では、すべてのへい死魚で腹腔内の出血が認められ、各臓器表面は血液が相当量付着していた。一部のへい死魚では腎臓の褪色が認められた。

## 考 察

有機リン系殺虫剤のスミチオン乳剤は、有効成分として MEP (dimethyl-4-nitro-m-tolylphosphorothionate) を 50% 含有する黄褐色可乳化油状液体で、魚毒性は B 類 (原体) に分類されている。B 分類とは農水省 (2000) によれば、コイの LC50 が 10 ppm を超えかつミジンコの LC50 が 0.5 ppm 以下である範囲に該当するか、またはコイの LC50 が 0.5 ppm を超え 10 ppm 以下である範囲に該当する場合とされている。

今回の結果も、供試魚のサイズが大型であるが同様の範疇に該当した。西内(1968)はMEPの24時間LC50で4.0 ppmとも報告している。またコイのサイズ別のLC50を求めた例では、魚体重で0.5 gから4 gまでのコイについて、MEP乳剤で2.8 ppmから8.6 ppmにあった(田中1978)。これはMEPのコイへの魚毒性の値は今回用いた体重39 g程度の稚魚においても同じ程度といえることから、B分類のLC50は比較的大型個体にもあてはまるものといえた。

濃度別のへい死尾数の経過では、6 ppm区の方が7 ppm区よりも生残率が低い結果という逆転がみられたほか、6 ppm区では暴露開始後3 h後の早い段階で複数のへい死がみられたにもかかわらず、その後96 h後までの長期間の暴露中では全くへい死がみられなかった。一方、8 ppm区は暴露後数時間で相当数がへい死しはじめ、24 h後に全数がへい死した。これは致死濃度の閾値はかなり明確に決まることが示唆されること、またへい死尾数が増加しないことから、暴露中に急速に供試魚が耐性を獲得することを示唆している。濃度差の逆転は、同一の履歴の供試魚であっても供試魚自体に耐性獲得能の程度に個体差が生じていると考えられた。なお、目視観察から対照区の遊泳状況と差がないものと判断できた試験区はMEP濃度2 ppm区以下であったことから、NOEC(No observed effect concentration; 最大無影響濃度)はMEP濃度2 ppmとみなせた。

また有機リン系農薬の魚類への影響として、脊椎骨変形の高い頻度での発生が知られているが(西内1971)、今回の試験では特に脊椎骨変形や骨折を伺わせるような事例は認められなかった。しかし、高濃度区ほど暴露直後から狂奔的な遊泳が継続してみられたことから、脊椎骨変形は起こりうると考えられた。それは、脊椎骨変形の発生がMEPの薬理作用としてコリンエステラーゼ活性阻害作用によるアセチルコリンの分解が阻害されることで、筋肉中蓄積に伴うけいれん性収縮がひきおこされ、それにもなう遊泳異常による物理的影響との知見と状況が一致していることによる(日比谷1965)。なお熊丸(1982)も、魚体重51 gから86 gまでのコイへのMEPの暴露で、MEP 4 ppmで24時間暴露した後の生残魚のコリンエステラーゼ活性値が対照区の84.2%に低下したことから、MEPの影響がコリンエステラーゼ活性に顕著に表れることを示している。

## 要 約

- (1) OECDおよび農林水産省の農薬毒性試験の方法に準じて、全長約140mm、体重約40gの比較的大型のコイ稚魚による、MEPを有効成分とする有機リン系殺虫剤のスミチオン乳剤の暴露試験を行った。
- (2) 96時間後の生残率にもとづく半数致死濃度(LC50)は6.78 ppmとなり、当該農薬の魚毒性区分B分類のLC50濃度の範囲と同じ結果となった。

(3) コイはLC50濃度を超える濃度に暴露されるほど狂奔的遊泳を示した。試験区濃度の低下とともに96時間後までの生残率は上昇する傾向がみられ、NOEC(最大無影響濃度)はMEP濃度2 ppmといえた。

(4) へい死魚の外観は、暴露濃度が高いほど下顎下面の基底部端部の両側二箇所に出血斑が明瞭に認められ、鰓出血もともなっていた。体表スレや腹部発赤、肛門出血が多くみられた。眼球突出も一部にみられた。

(5) へい死魚のすべてにおいて腹腔内出血が認められた。

## 文 献

- 熊丸敦郎(1982):魚類斃死原因検査に関する研究-I有機リン系農薬による影響検査方法について、茨城内水試調研報告, 19, 17-37
- 田中二良(1978):水生生物と農薬-急性毒性資料編,サイエンティフィック社,東京, pp.351
- 西内康浩(1971):農薬製剤の数種淡水産動物に対する毒性XI,水産増殖, 19(4), 151-157
- 農林水産省(1965):魚類に対する毒性試験法,昭和40年11月25日付け40農政B第2735号農政局長通達
- 農林水産省(2000):魚類急性毒性試験,能宅の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針,農薬の登録申請にかかる試験成績について,平成12年11月24日付け農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知
- 日比谷京(1965):農薬の水産生物に対する作用機構,日本水産学会誌, 31(9), 713-714
- OECD(1992): OECD Guideline for testing of chemicals, Fish, Acute Toxicity Test, adopted by the Council, 17.July, 203,1-9