

## 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—

熊 丸 敦 郎

県内保健所、市町村から当内水試への魚類斃死原因検査依頼件数は年々増加の傾向にあり、その原因についても多様化してきている。本報告の末尾に、当内水試の前身である水産振興所当時から現在に至るまでに扱われた魚類斃死原因検査に関する報告および内部資料を一覧表として載せておいた。

こうした実状から、より精度の高い、簡易な死因判定技術の確立が望まれるところである。今回とりあげた有機リン系農薬については、これまで、このものによると思われる斃死事例は必ずしも多くはないが、県内に農地が広く分布しているために、斃死原因として疑いをもたれることが多く、したがってほとんどの斃死事例でその検証が必要である。

なお、有機リン系農薬による魚類斃死については、これまでに戸倉ら<sup>1)</sup>がボラについて、坂口<sup>2)</sup>がコイの血液、肝臓成分の変化について、報告しており、その中で有機リン系農薬によりコリンエステラーゼ活性が低下することを述べている。ここではこれらの知見をもとに実際の斃死原因検査においてさらに必要と思われる、コリンエステラーゼ活性値の測定方法、県内の主な魚類等における通常値、農薬その他の斃死におけるコリンエステラーゼ活性値等について検討を加えたので、報告する。

#### 1 コリンエステラーゼ活性測定方法についての検討

コリンエステラーゼ活性(以下Ch-E活性とする)測定方法としては、比色法(Hestrinの方法)とワールブルグ検圧計を用いる方法とがあるが、筆者は多数の検体を一度に測定できること、感度が高いことから後者を測定方法として選んだ。なお、ワールブルグ検圧計取り扱い方法については、続ワールブルグ検圧計<sup>3)</sup>、実験化学講座-24<sup>4)</sup>に詳しい説明がなされている。

##### (1) 魚体各組織におけるCh-E活性値

第1表に示すとおり、脳において最も高い値を示し、血清の約260倍となっている。また、魚類からの採血は熟練を要すること、斃死魚からの採血は血液凝固のため困難であること等から、魚類におけるCh-E活性の測定は活性の高い脳について行なうこととする。

なお、脳をサンプルとした場合、ホモジナイズ後、リンゲル液での稀釈倍率は50倍が適当

である。

第1表 魚体各組織におけるCh-E活性値

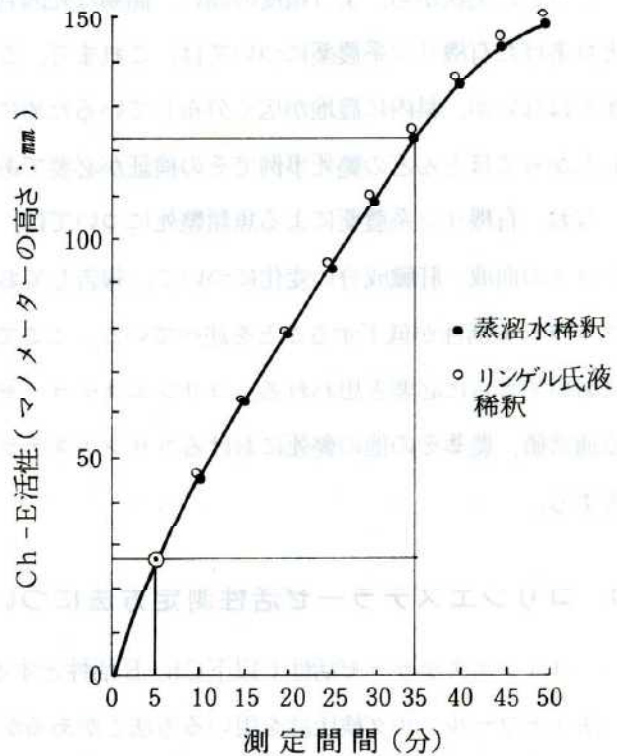
(2) 脳ホモジナイズ稀釈液および測定時間について

一般に、組織ホモジナイズ液の稀釈はpH 7.4のリンゲル氏液を用いることになっている。

このリンゲル氏液のかわりに蒸溜水で稀釈して、両者を比較したところ第1図に示したようにほとんど差が見られなかった。測定方法の簡略化のため、以降蒸溜水により稀釈することとした。次に測定時間については、初めの5分間は活性が高く、35分後までは比較的安定した活性を保ち、それ以降は活性が低下している。(第1図)初めの5分間で活性が高いのは、脳ホモジナイズ液が氷冷してあるため、温度上昇に伴って見かけ上高い活性を示しているものと思われ、したがって、セットして5分間はマンノメーターのコックを開放として空運転し、正確に5分後にコックを閉じて測定開始することとする。また、測定はコックを閉じてから5分毎に35分間行なうこととする。

| 組 織   | Ch-E活性値<br>(CO <sub>2</sub> μl/mg·min) | 測定に際しての<br>稀 釈 倍 率 |
|-------|--|--------------------|
| 血 清   | 0.00206                                | × 1                |
| 肝 臓   | 0.0540                                 | × 5                |
| 腎 臓   | 0.0499                                 | × 5                |
| 脾 臓   | 0.0109                                 | × 2                |
| 消 化 管 | 0.0795                                 | × 10               |
| 筋 肉   | 0.169                                  | × 20               |
| 鰓 脳   | 0.0595                                 | × 10               |
| 脳     | 0.539                                  | × 50               |

供試魚；コイ，D.W.；97.0g，S.L.；15.6cm，  
棲息水温；18.2℃，測定温度；28.0℃



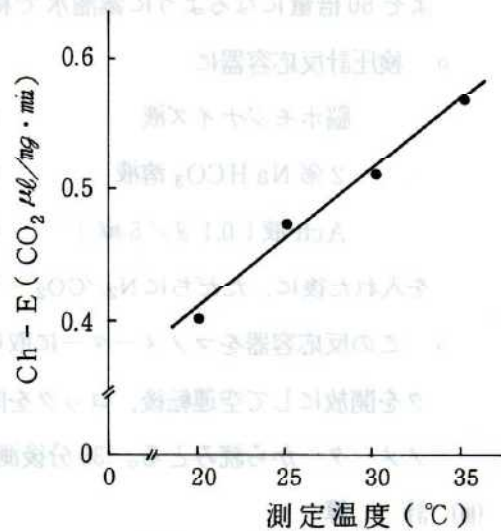
第1図 蒸溜水およびリンゲル氏液稀釈におけるCh-E活性

(3) 測定温度について

温水性魚類の適温25℃前後が測定温度として好ましいと思われるが、ワールブルグ検圧計に冷却装置がないため、夏期の高温時を考慮して28℃で測定することとした。室温が28℃以上の場合は、井戸水を少量流水にして28℃とするか、あるいは第2図の勾配からおおよそ補

第2表 測定温度とCh-E活性

| 測定温度<br>(°C) | Ch-E活性値<br>(CO <sub>2</sub> μ/mg・min) | [平均]      |
|--------------|---------------------------------------|-----------|
| 20           | (1) 0.397<br>(2) 0.405 }<br>}         | [ 0.401 ] |
| 25           | (1) 0.449<br>(2) 0.497 }<br>}         | [ 0.473 ] |
| 30           | (1) 0.498<br>(2) 0.527 }<br>}         | [ 0.513 ] |
| 35           | (1) 0.522<br>(2) 0.620 }<br>}         | [ 0.571 ] |



第2図 測定温度とCh-E活性

供試魚；コイ， B.W.；(1) 453.9 g  
(2) 300.1 g

正する。

#### (4) 脳・コリンエステラーゼ活性値測定方法の概要

##### (i) 器具，試薬

- ワールブルグ検圧計（マンメーター，容器各組合わせごとに容器係数： $k_{CO_2}$ をあらかじめ求めておく。）
- ガラスホモジナイザー（30 ml容量）
- 2% NaHCO<sub>3</sub>溶液；NaHCO<sub>3</sub> 1 gを蒸留水で50 mlに定容，溶解後氷冷しておく。使用のつど調整する。
- アセチルコリン溶液（0.1 g/5 ml）；塩化アセチルコリン（0.1 g入りアンプルとして市販されている；オピソート）を蒸留水で5 mlに定容する。使用のつど調整する。
- N<sub>2</sub>：CO<sub>2</sub> = 95：5 混合ガス（市販品）

##### (ii) 操作手順

- ワールブルグ検圧計の水温が28°Cに安定するまでに時間を要するため，測定に際しまず，ワールブルグ検圧計の温度コントロールスイッチを入れておく。
- 供試魚を解凍した後，魚種，体重，体長を測定記録
- 脳を摘出\*，湿重を測定する。

\* 脳の摘出は口腔からハサミを入れ，脳に傷をつけないように正中線に沿って頭蓋骨を切開し，更にこれと直角に後頭部脊椎骨を切断する。次にピンセットで口部切断面から，脳が露出するまで徐々に押し広げ，視神経その他の毛細神経を切断後，ピンセットで脊髄の方から静かに脳を摘出する。

- 脳サンプルを氷冷しながら、少量の蒸留水を加えてホモジナイズし、全容が脳湿重のおよそ 50 倍量になるように蒸留水で稀釈定容後、試験管に移し氷冷しておく。

- 検圧計反応容器に

|                          |        |
|--------------------------|--------|
| 脳ホモジナイズ液                 | 1.0 ml |
| 2% NaHCO <sub>3</sub> 溶液 | 0.6 ml |
| Ach 液 (0.1 g/5 ml)       | 0.3 ml |

を入れた後に、ただちに N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> = 95/5 混合ガスで容器内のガス交換をする。

- この反応容器をマンオメーターに取り付け、ワールブルグ検圧計にセットし、5 分間コックを開放にして空運転後、コックを閉じ、これより 5 分毎に上昇する CO<sub>2</sub> ガス分圧をマンオメーターから読みとる。35 分後測定を終わる。

### (iii) 計 算

上記のマンオメーター取り付け 5 分後から 35 分後までの 30 分間における、上昇目盛の平均値を  $h \text{ mm/min}$ 、容器係数を  $k_{\text{CO}_2}$ 、脳サンプル湿重を  $S \text{ mg}$ 、稀釈後の全容を  $V \text{ (ml)}$ 、コリンエステラーゼ活性値を  $\text{Ch-E} \text{ (}\mu\text{l/mg}\cdot\text{min)}$  とすると、

$$\text{Ch-E} = h \times k_{\text{CO}_2} \times \frac{V}{S}$$

## 2 各種魚類における脳 Ch - E 通常値

魚類斃死原因検査において、有機リン系農薬によるものか否かの検証は斃死魚と正常魚の脳 Ch - E 活性値を比較することによって行なうわけであるが、このためあらかじめ各魚種について Ch - E 正常値を知っておく必要がある。そこで、県内の淡水および汽水域に棲息する主な魚類 16 種とタニシ・テナガエビについて Ch - E 活性値を測定した。なお、検体採取は天然湖沼・河川において、原則として農薬使用時期 (3 月～7 月) をさけて行なった。

したがって、天然魚のため必ずしも有機リン系農薬の影響を受けていないとは言い切れず、これらの値を通常値と言い表わすこととした。また、タニシについては河川湖沼のほぼ全域に棲息し、移動範囲が小さいことから有機リン系農薬の影響調査の上で好都合と考えたためであり、テナガエビについては特に甲殻類が有機リン系農薬の影響を受けやすいというそれぞれの理由で検体として加えた。

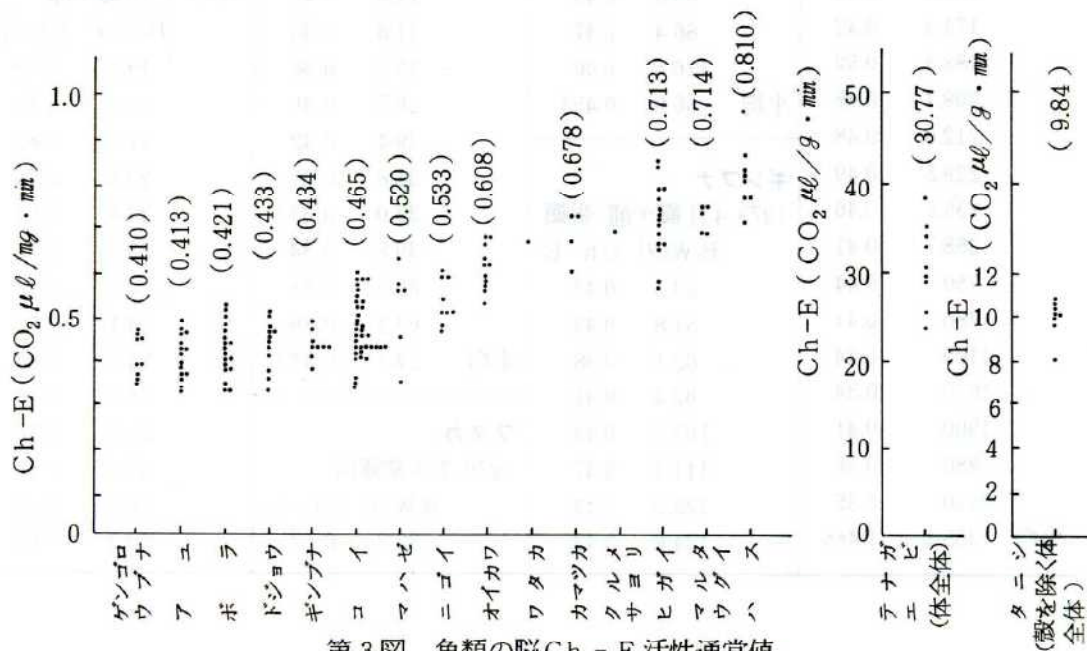
その結果は第 3 表、第 3 図に示すとおりである。

これによると魚種間で Ch - E 活性値にかなりの差が見られ、ハスはもっとも高くアユ、フナの 2 倍近い値を示している。また、各魚種における Ch - E 個体差がかなり大きい結果となって

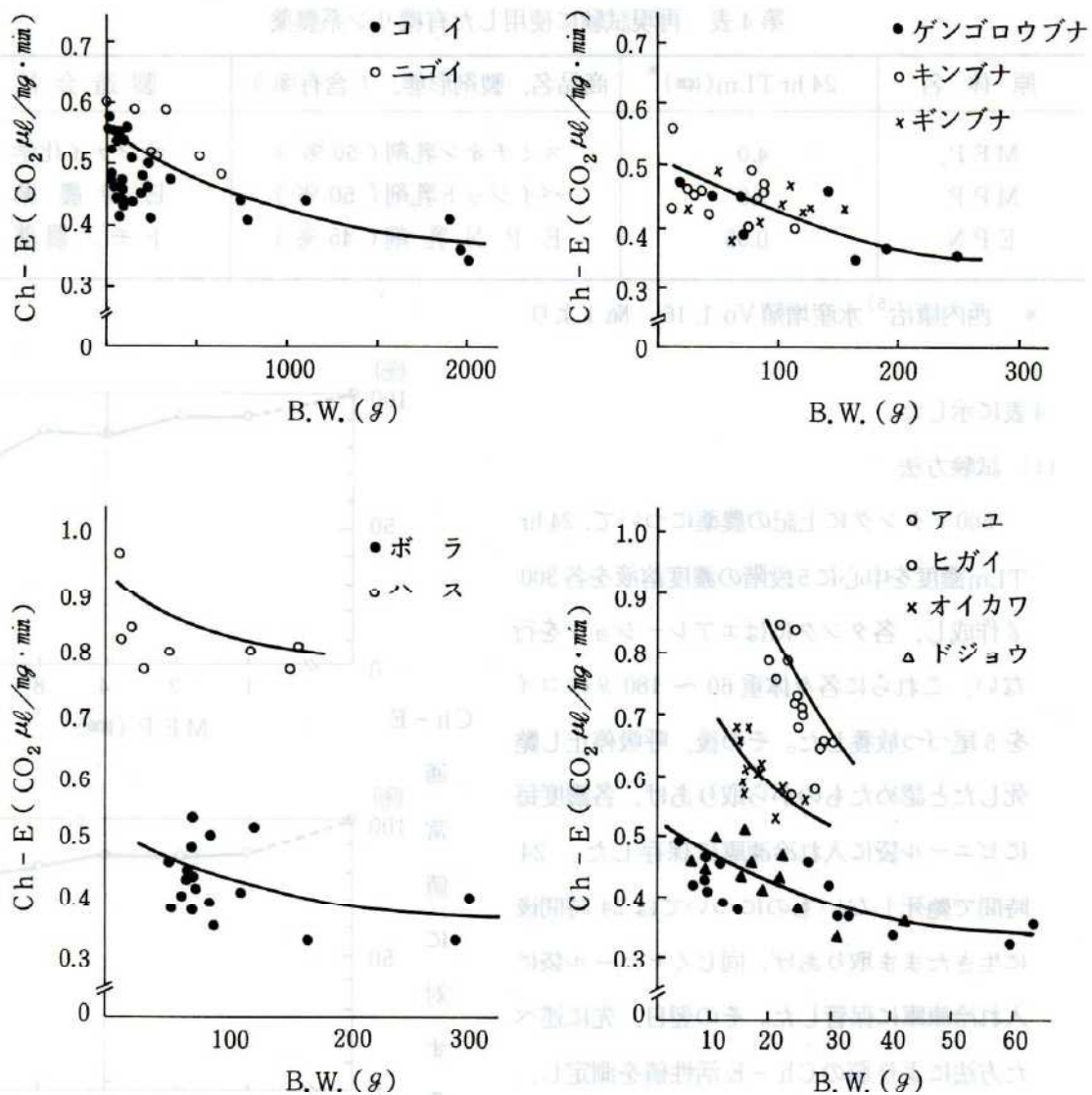
第3表 各魚種における脳Ch - E活性値 (CO<sub>2</sub>  $\mu$ l / mg · min)

|  |                                       |                                       |  |  |                                       |  |               |                                       |
|--|---------------------------------------|---------------------------------------|--|--|---------------------------------------|--|---------------|---------------------------------------|
| コイ<br>1979. 1~3月, 9~10月<br>1980. 11.~12月採取<br>池中, 網生養殖魚<br>B.W(g) Ch-E | ゲンゴロウブナ<br>1979. 4月霞ヶ浦・張網             |                                       | 153.5 0.43                             | クルメサヨリ<br>1979. 7. 12 常陸川<br>B.W(g) Ch-E<br>8.3 0.69 |                                       |  |               |                                       |
|  | B.W(g) Ch-E                           | 平均 92.7 0.434                         | オイカワ<br>1979. 7. 31 久慈川<br>B.W(g) Ch-E |  |                                       |  |               |                                       |
|  | 19.5 0.47                             | 13.8 0.68                             |  |  |                                       |  |               |                                       |
|  | 44.0 0.45                             | 平均 124.2 0.410                        | 14.6 0.66                              | カマツカ<br>1979. 7. 13 久慈川<br>B.W(g) Ch-E               |                                       |  |               |                                       |
|  | 70.7 0.45                             |                                       | 15.3 0.59                              |  | 5.6 0.72                              |  |               |                                       |
|  | 72.2 0.39                             |                                       | 15.8 0.57                              |  | 5.9 0.67                              |  |               |                                       |
|  | 140.2 0.46                            |                                       | 平均 17.7 0.608                          | 15.9 0.68  | 6.4 0.60                              |  |               |                                       |
|  | 157.9 0.35                            |                                       |  | 16.1 0.61  | 8.3 0.72                              |  |               |                                       |
|  | 170.8 0.39                            |                                       |  | 17.4 0.61  | 平均 6.6 0.678                          |  |               |                                       |
|  | 192.8 0.37                            |                                       |  | 17.8 0.62  |                                       |  |               |                                       |
|  | 250.0 0.36                            |                                       |  | 20.4 0.53  |                                       |  |               |                                       |
|  | 平均 124.2 0.410                        |                                       |  | 平均 17.7 0.608  | 21.9 0.58                             | マハゼ<br>1979. 1. 16 ~ 3. 9<br>瀬沼<br>B.W(g) Ch-E |               |                                       |
|  | キンブナ<br>1979. 4月霞ヶ浦・張網<br>B.W(g) Ch-E |                                       |  |  | 11.3 0.43                             |  | 26.0 0.56     | 30.8 0.45                             |
|  |                                       |                                       |  |  | 11.8 0.56                             |  | 平均 17.7 0.608 | 37.4 0.56                             |
|  |                                       |                                       |  |  | 23.8 0.46                             | アユ<br>1979. 7. 13 ~ 31 日久慈川<br>B.W(g) Ch-E     |               | 45.9 0.63                             |
|  |                                       |                                       |  |  | 28.2 0.46                             |  |               | 4.6 0.49                              |
|  |                                       | 40.2 0.42                             |  |  | 7.5 0.42                              |  |               | 55.2 0.56                             |
|  |                                       | 74.5 0.40                             |  |  | 8.4 0.43                              |  |               | 82.6 0.35                             |
|  |                                       | 75.0 0.45                             | 9.3 0.47                               |  | 平均 49.9 0.520                         |  |               |                                       |
|  |                                       | 78.0 0.49                             | 9.4 0.41                               |  |                                       |  |               |                                       |
|  |                                       | 84.3 0.45                             | 11.5 0.46                              |  |                                       |  |               |                                       |
|  |                                       | 85.6 0.45                             | 平均 24.1 0.413                          |  | 11.8 0.39                             |  |               | ヒガイ<br>1980. 1. 16 霞ヶ浦<br>B.W(g) Ch-E |
|  |                                       | 86.4 0.47                             |  |  | 15.0 0.38                             |  |               |                                       |
|  |                                       | 116.5 0.40                            |  | 26.7 0.46  | 20.9 0.76                             |  |               |                                       |
|  | 平均 56.9 0.453                         | 29.4 0.42                             |  | 21.3 0.85  |                                       |  |               |                                       |
|  | ギンブナ<br>1979. 4月霞ヶ浦・張網<br>B.W(g) Ch-E | 23.3 0.43                             |  | 平均 24.1 0.413  | 22.6 0.79                             |  |               |                                       |
|  |                                       | 51.8 0.49                             |  |  | 31.8 0.37                             | 23.4 0.57                                      |               |                                       |
|  |                                       | 62.1 0.38                             |  |  | 33.0 0.37                             | 23.5 0.84                                      |               |                                       |
|  |                                       | 82.4 0.41                             |  |  | 39.8 0.34                             | 24.1 0.72                                      |               |                                       |
|  |                                       | 103.0 0.44                            |  |  | 60.0 0.33                             | 24.1 0.73                                      |               |                                       |
|  |                                       | 111.3 0.47                            |  |  | 63.3 0.36                             | 24.2 0.68                                      |               |                                       |
|  |                                       | 122.0 0.43                            |  |  | 平均 24.1 0.413                         | 25.0 0.71                                      |               |                                       |
|  |                                       | 124.6 0.43                            |  |  |                                       | 25.7 0.70                                      |               |                                       |
| 平均 365.1 0.465   |                                       | ギンブナ<br>1979. 4月霞ヶ浦・張網<br>B.W(g) Ch-E | 平均 24.1 0.413                          |  | ヒガイ<br>1980. 1. 16 霞ヶ浦<br>B.W(g) Ch-E |  |               |                                       |
|  |                                       |                                       |  |  |                                       | 750 0.44                                       | 27.2 0.58     |                                       |
|  |                                       |                                       |  |  |                                       | 780 0.41                                       | 28.0 0.65     |                                       |
| 1100 0.44  |                                       | ワタカ<br>1979. 7. 3 常陸川<br>B.W(g) Ch-E  | 平均 22.2 0.67                           |  | 29.3 0.66                             |  |               |                                       |
| 1670 0.34  | 22.2 0.67                             |                                       |  |  |                                       |  |               |                                       |
| 1900 0.41  | ワタカ<br>1979. 7. 3 常陸川<br>B.W(g) Ch-E  | 平均 22.2 0.67                          | 29.3 0.66                              |  |                                       |  |               |                                       |
| 1980 0.36  |                                       |                                       |  | 22.2 0.67  |                                       |  |               |                                       |
| 2010 0.35  | ワタカ<br>1979. 7. 3 常陸川<br>B.W(g) Ch-E  | 平均 22.2 0.67                          | 29.3 0.66                              |  |                                       |  |               |                                       |
| 平均 365.1 0.465   |                                       |                                       |  | 22.2 0.67  |                                       |  |               |                                       |

| 平均                 | 30.3<br>0.66         | マルタウグイ                     | ハス                            | テナガエビ(体全体)                     |
|--------------------|----------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| 平均                 | 24.6<br>0.713        | 1980. 1. 16 ~ 3. 7 日<br>酒沼 | 1980. 2. 6 霞ヶ浦<br>B.W(g) Ch-E | 1981. 9. 24 霞ヶ浦<br>B.W(g) Ch-E |
| ボラ                 |                      | B.W(g) Ch-E                |                               |                                |
| 1980. 1. 16 ~ 22 日 |                      | 31.9 0.74                  | 13.0 0.96                     | 1.06 32.54                     |
| 酒沼, 霞ヶ浦            |                      | 61.7 0.68                  | 15.5 0.82                     | 1.55 34.98                     |
| B.W(g) Ch-E        |                      | 470 0.73                   | 22.9 0.84                     | 2.28 29.37                     |
| 57.2 0.38          |                      | 620 0.74                   | 34.5 0.77                     | 2.48 28.94                     |
| 58.1 0.46          |                      | 711.1 0.68                 | 55.3 0.80                     | 2.83 25.33                     |
| 67.2 0.40          | 平均                   | 378.9 0.714                | 121.9 0.71                    | 3.40 30.04                     |
| 72.8 0.44          |                      |                            | 152.2 0.77                    | 4.20 38.38                     |
| 73.0 0.43          | ドジョウ                 |                            | 156.5 0.81                    | 4.45 33.78                     |
| 75.1 0.43          | 1980. 1. 16 ~ 4. 3 日 |                            | 平均                            | 7.33 23.60                     |
| 75.1 0.53          | 霞ヶ浦                  |                            |                               | 平均                             |
| 75.4 0.42          | B.W(g) Ch-E          |                            | 平均                            | 3.29 30.77                     |
| 75.9 0.48          | 7.1 0.46             |                            | ニゴイ                           |                                |
| 77.0 0.38          | 9.0 0.45             |                            | 1980. 3. 7 霞ヶ浦                | タニシ(殻を除く体全体)                   |
| 90.8 0.50          | 11.2 0.50            |                            | B.W(g) Ch-E                   | 1981. 1. 22 養魚池                |
| 91.3 0.39          | 15.4 0.44            |                            | 21.0 0.60                     | B.W(g) Ch-E                    |
| 93.0 0.35          | 16.0 0.51            |                            | 169.3 0.59                    | 30.10/19 (1.58) 10.84          |
| 117.1 0.41         | 16.9 0.46            |                            | 279.6 0.51                    | 30.13/15 (2.01) 10.29          |
| 127.5 0.52         | 18.8 0.41            |                            | 294.3 0.51                    | 31.03/11 (2.82) 10.47          |
| 172.1 0.33         | 21.5 0.43            |                            | 311.6 0.59                    | 34.00/7 (4.86) 9.52            |
| 296.1 0.33         | 22.0 0.47            |                            | 370.0 0.47                    | 27.46/4 (6.87) 8.00            |
| 305.0 0.40         | 24.7 0.38            |                            | 515.8 0.51                    | 5.7 9.84                       |
| 平均                 | 111.1 0.421          | 30.9 0.33                  | 638.5 0.48                    | 6.9 9.94                       |
|                    |                      | 42.6 0.36                  | 1910 0.54                     | 平均                             |
|                    |                      | 平均                         | 平均                            | 4.39 9.84                      |
|                    |                      | 19.7 0.433                 | 平均                            |                                |
|                    |                      |                            | 501.1 0.533                   |                                |



第3図 魚類の脳Ch-E活性通常値



第4図 各魚種における体重と脳Ch-E活性の関係

いる。第4図に各魚種ごとの体重とCh-E活性値について示したが、これによると体重が大きい程Ch-E活性が低い傾向が見られる。天然魚におけるこうした傾向は、農薬によるものか、或は本来体重によってCh-E活性値が異なるものか、不明であるが、いずれにしても農薬の影響検査においては通常値のこうした傾向を考慮しながら比較検討する必要がある。

### 3 有機リン系農薬によるCh-E活性低下再現試験

県内で比較的多く使用される有機リン系農薬MEP, MPP, EPNについてコイを供試魚として再現試験を行なった。なお使用した農薬の24時間TLm値<sup>5)</sup>, 商品名, 含有率等については第

第4表 再現試験に使用した有機リン系農薬

| 原体名 | 24 hr TLm(ppm)* | 商品名, 製剤形態, (含有率) | 製造会社   |
|-----|-----------------|------------------|--------|
| MEP | 4.0             | スミチオン乳剤(50%)     | サンケイ化学 |
| MPP | 3.0             | バイジット乳剤(50%)     | 日特農薬   |
| EPN | 0.55            | E P N 乳剤(45%)    | トモノ農薬  |

\* 西内康治<sup>5)</sup> 水産増殖Vo 1.16, No.1より

4表に示した。

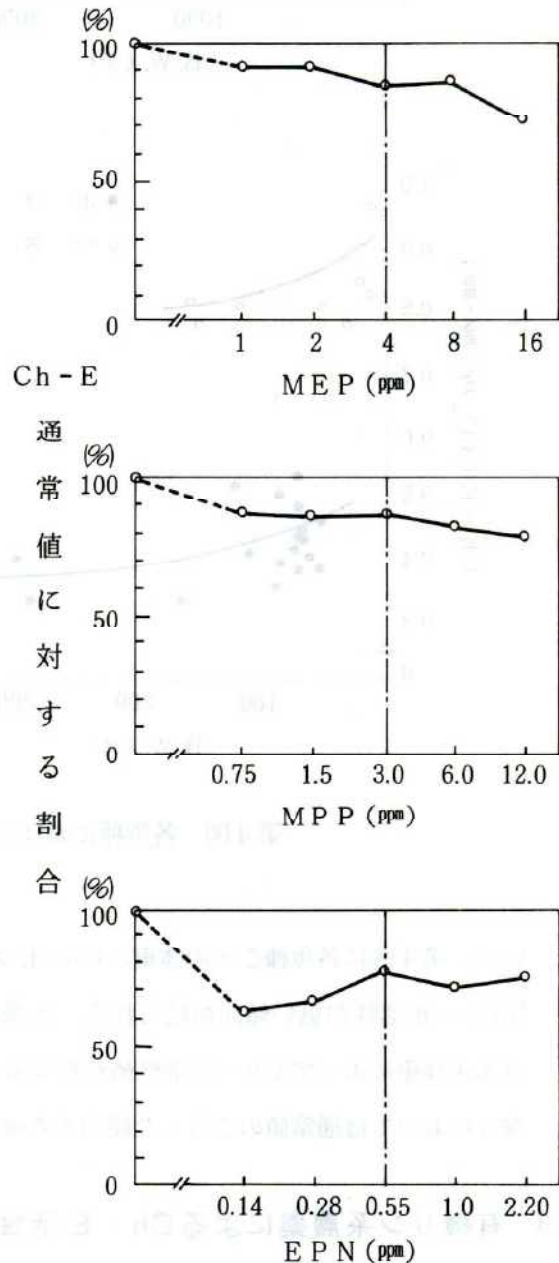
(1) 試験方法

500 l タンクに上記の農薬について, 24 hr TLm濃度を中心に5段階の濃度溶液を各300 l 作成し, 各タンクにはエアレーションを行ない, これらに各々体重60~180 gのコイを5尾ずつ放養した。その後, 呼吸停止し斃死したと認めたものから取りあげ, 各濃度毎にビニール袋に入れ冷凍庫に保存した。24時間で斃死しないものについては24時間後に生きたまま取りあげ, 同じくビニール袋に入れ冷凍庫に保管した。その翌日, 先に述べた方法により脳Ch-E活性値を測定し, 試験毎に農薬に被薬しないコイ5尾を対照とし各々との比較を行なった。なお, 試験中の水温は全試験を通して24.5~27.7℃であった。

(2) 結果および考察

MEP, MPP, EPNによる再現試験結果を第5表~第7表および第5図に示した。

これらによると, 各有機リン剤ともコイの脳Ch-E活性を低下せしめ, 特にEPNについては通常値に比較して63%の値(阻害率37%)を示した。また, MEP, MPPに



第5図 各種有機リン系農薬濃度とCh-E活性値



第5表 MEP (スミチオン) 50%乳剤による再現試験結果

| No.  | Control     | 1       | 2                                    | 3      | 4         | 5           |
|--|-------------|---------|--------------------------------------|--------|-----------|-------------|
| 50%乳剤濃度<br>(g/300ℓ)                        | 0           | 0.6     | 1.2                                  | 2.4    | 4.8       | 9.6         |
| 原体濃度 (ppm)                                 | 0           | 1.0     | 2.0                                  | 4.0*   | 8.0       | 16.0        |
| コイ 5尾 斃死状況                                 | 24 hr 後も全生残 |         | 24 hr 後も全生残したが体色黒化, 元気がなく表層を浮游, 音に敏感 |        | 4 hr 後全斃死 | 30 min 後全斃死 |
| 魚 体 重 (g)                                  | (1) 183.3   | 105.4   | 109.8                                | 86.6   | 100.1     | 117.0       |
|  | (2) 131.3   | 86.6    | 50.4                                 | 64.2   | 64.4      | 93.6        |
|  | (3) 131.2   | 57.6    | 53.0                                 | 56.6   | 62.6      | 84.3        |
|  | (4) 100.4   | 53.0    | 54.9                                 | 54.8   | 58.3      | 80.1        |
|  | (5) 62.5    | 56.0    | 47.5                                 | 51.0   | 47.2      | 67.6        |
| 脳 Ch - E 活性<br>(CO <sub>2</sub> μℓ/mg·min) | (1) 0.479   | 0.467   | 0.436                                | 0.455  | 0.479     | 0.360       |
|  | (2) 0.512   | 0.507   | 0.491                                | 0.418  | 0.438     | 0.371       |
|  | (3) 0.555   | 0.520   | 0.558                                | 0.443  | 0.460     | 0.405       |
|  | (4) 0.553   | 0.482   | 0.475                                | 0.449  | 0.421     | 0.331       |
|  | (5) 0.520   | 0.422   | 0.423                                | 0.439  | 0.456     | 0.386       |
| (平均)                                       | (0.524)     | (0.480) | (0.447)                              | 0.441) | (0.451)   | 0.371       |
| Control に対する<br>割 害 率 (%)                  | 100         | 91.6    | 91.1                                 | 84.2   | 86.1      | 70.8        |
| 阻 害 率 (%)                                  | 0           | 8.4     | 8.9                                  | 15.8   | 13.9      | 29.2        |

\* MEP原体のコイ 24 hr TLm濃度: 4.0 ppm

第6表 MPP (バイジット) 50%乳剤による再現試験結果

| No   | Control       | 1       | 2       | 3  | 4                  | 5             |
|--|---------------|---------|---------|--|--------------------|---------------|
| 50%乳剤濃度<br>(g/300ℓ)                        | 0             | 0.45    | 0.9     | 1.8  | 3.6                | 7.2           |
| 原体濃度(ppm)                                  | 0             | 0.75    | 1.5     | 3.0**                                      | 6.0                | 12.0          |
| コイ5尾斃死状況                                   | 24 hr 後の取り上げ時 |         |         | 3 hr 10 min<br>後 1/5 死<br>残りは 24 hr<br>後生残 | 2 hr 30 min<br>全斃死 | 1 hr 後<br>全斃死 |
| (1)  | 84.1          | 79.5    | 123.5   | 181.4                                      | 122.9              | 129.2         |
| (2)  | 83.0          | 60.9    | 74.4    | 98.4                                       | 92.1               | 110.9         |
| 魚体重(g)                                     | (3) 60.3      | 59.9    | 70.0    | 90.9                                       | 80.0               | 83.9          |
| (4)  | 54.4          | 55.2    | 66.6    | 62.1                                       | 69.3               | 76.7          |
| (5)  | -             | 56.2    | 63.7    | 62.8                                       | 64.6               | 60.7          |
| (1)  | 0.440         | 0.448   | 0.391   | 0.417                                      | 0.402              | 0.374         |
| (2)  | 0.515         | 0.414   | 0.457   | 0.402                                      | 0.426              | 0.364         |
| 脳 Ch - E 活性<br>(CO <sub>2</sub> μℓ/mg·min) | (3) 0.492     | 0.443   | 0.428   | 0.403                                      | 0.361              | 0.426         |
| (4)  | 0.509         | 0.439   | 0.392   | 0.483                                      | 0.433              | 0.393         |
| (5)  | -             | 0.434   | 0.473   | 0.454                                      | 0.429              | 0.394         |
| (平均)                                       | (0.498)       | (0.436) | (0.428) | (0.432)                                    | (0.410)            | (0.391)       |
| Control に対する<br>割合 (%)                     | 100           | 87.6    | 85.9    | 86.7                                       | 82.3               | 78.5          |
| 阻害率 (%)                                    | 0             | 12.4    | 14.1    | 13.3                                       | 17.7               | 21.5          |

\*\* MPP原体のコイ 24 hr TLm 濃度：3.0 ppm

第7表 EPN 45%乳剤による再現試験結果

| No   | Control   | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  |
|--|---|--|--|--|--|--|
| 45%乳剤濃度<br>(g/300ℓ)                        | 0   | 0.092  | 0.183  | 0.366  | 0.732  | 0.467  |
| 原体濃度(ppm)                                  | 0   | 0.138  | 0.275  | 0.55***  | 1.10   | 2.20   |
| コイ 5尾斃死状況                                  | 24 hr 後も<br>全生残   |  | 20 hr 以内<br>1/5死<br>24 hr 後も<br>4/5生残                | 5 hr 後<br>4/5死<br>7 hr 15 min<br>全斃死                 | 3 hr 15 min<br>3/5死<br>5 hr 後<br>全斃死                 | 2 hr 後<br>全斃死  |
| 魚 体 重 (g)                                  | (1) 106.0<br>(2) 82.6<br>(3) 73.3<br>(4) 68.1<br>(5) 36.4                     | 142.9<br>87.4<br>68.0<br>65.9<br>63.9                | 93.2<br>61.6<br>63.2<br>57.4<br>55.4                 | 87.8<br>85.2<br>81.7<br>85.3<br>71.8                 | 92.8<br>87.6<br>90.6<br>82.8<br>68.7                 | 112.5<br>90.1<br>83.6<br>69.5<br>58.2                |
| 脳 Ch - E 活性<br>(CO <sub>2</sub> μℓ/mg·min) | (1) 0.433<br>(2) 0.436<br>(3) 0.436<br>(4) 0.519<br>(5) 0.559<br>(平均) (0.477) | 0.271<br>0.302<br>0.292<br>0.321<br>0.308<br>(0.299) | 0.363<br>0.293<br>0.283<br>0.325<br>0.321<br>(0.317) | 0.490<br>0.411<br>0.365<br>0.279<br>0.369<br>(0.365) | 0.335<br>0.381<br>0.351<br>0.304<br>0.341<br>(0.342) | 0.256<br>0.367<br>0.366<br>0.393<br>0.387<br>(0.354) |
| Control に対する<br>割合 (%)                     | 100   | 62.7   | 66.5   | 76.5   | 71.7   | 74.2   |
| 阻 害 率 (%)                                  | 0   | 37.3   | 33.5   | 23.5   | 28.3   | 25.8   |

\*\*\* EPN原体のコイ 24 hr TLm 濃度 : 0.55 ppm

については高濃度になるに従ってCh - E活性阻害率も高くなる傾向が見られるが、EPNにおいては必ずしもその限りではなく、弱干ではあるが、むしろ低濃度長時間(0.14 ppm, 24時間)において阻害率が高かった。なお、戸倉ら<sup>1)</sup>がボラについて有機リン剤(PAP)によりCh-E活性が83~90%阻害されたと報告しており、今回のコイのCh - E阻害率と比較するとかなり高い値であり、このことは有機リン剤に対する感受性は魚種によって異なることを示唆するものと考えられる。さらにWeiss<sup>2)</sup>は魚種により、また有機リン系殺虫剤の種類によってもCh - E活性阻害度および、清浄な水にもどしたときの回復のパターンが一樣でないことを報告している。

以上のことから、魚類斃死時にその斃死魚の脳Ch - E活性阻害率から、その時の有機リン系農薬濃度を推定することはできないが、斃死原因が有機リン系農薬であったかどうかの判定には有効な指標であるといえよう。

#### 4 有機リン系農薬以外の原因による斃死魚Ch - E活性値について

これまで、Ch - E活性阻害は有機リン系およびカーバメート系殺虫剤の特異的な作用とされているものの、その他の斃死原因でのCh - E活性については言及されていない。そこで、いままでの斃死事例の中から、いくつかの斃死原因についてCh - E活性値の測定を行ない、通常値との比較をした。

##### (1) 試験方法

###### (i) N<sub>2</sub>ガス病死

井戸水使用の一般家庭観賞池での斃死ゴイで、鰓・腹腔内・うき袋・その他の毛細血管における気泡から、明らかにガス病と判断された検体について脳Ch - E活性値を測定した。

###### (ii) 酸欠死

約5ℓ水量のビニール袋中で人為的に酸素欠乏死させたコイを検体とした。

###### (iii) フェノール

1 ppm ; 24時間後, 100 ppm ; 斃死直後再現試験のコイについて

###### (iv) 2-4-6-クロロフェノール

0.3 ppm ; 24時間後, 30 ppm ; 斃死直後再現試験のコイについて

###### (v) ポリ塩化アルミニウム

0.2 ppm再現斃死コイについて

###### (vi) 硫酸酸性水

pH 4, 8.4 Ax : 0.23 ~ 0.66, および pH3.8, 8.4 Ax : 1.70 の硫酸溶液による再現斃

第8表 各種原因による斃死ゴイの脳Ch - E活性

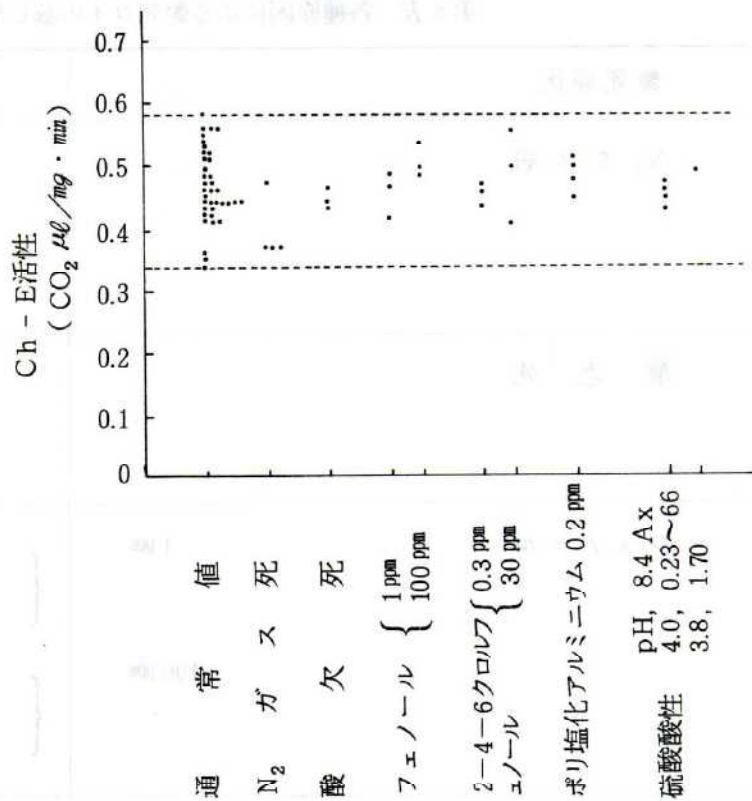
| 斃死原因               | B.W.(g)                             | Ch - E活性<br>(CO <sub>2</sub> $\mu$ l/mg · min) |       |
|--------------------|-------------------------------------|--|-------|
| N <sub>2</sub> ガス病 | 340                                 | 0.467  |       |
|                    | 360                                 | 0.369  |       |
|                    | 560                                 | 0.374  |       |
|                    | 630                                 | 0.366  |       |
| 酸 乏 死              | 43.9                                | 0.44   |       |
|                    | 101.1                               | 0.46   |       |
|                    | 116.9                               | 0.43   |       |
| フェノール              | 1 ppm                               | 19.1   | 0.48  |
|                    |                                     | 23.3   | 0.46  |
|                    |                                     | 260  | 0.41  |
|                    | 100 ppm                             | 32.0   | 0.53  |
|                    |                                     | 33.2   | 0.48  |
|                    |                                     | 230  | 0.49  |
| 2-4-6-クロルフェノール     | 0.3 ppm                             | 21.0   | 0.46  |
|                    |                                     | 23.4   | 0.45  |
|                    |                                     | 261.5  | 0.43  |
|                    | 30 ppm                              | 20.0   | 0.55  |
|                    |                                     | 28.8   | 0.40  |
|                    |                                     | 35.0   | 0.49  |
| 硫酸酸性水              | pH 4.0, 8.4 Ax : 0.23 ~ 0.66        | 150.0  | 0.437 |
|                    |                                     | 174.3  | 0.420 |
|                    |                                     | 209.7  | 0.454 |
|                    |                                     | 235.6  | 0.458 |
|                    | pH 3.8, 8.4 Ax : 1.70<br>40 min 後斃死 | 212.6  | 0.480 |
|                    |                                     |  |       |
| ポリ塩化アルミニウム         | 0.2 ppm                             | 51.2   | 0.502 |
|                    |                                     | 73.3   | 0.490 |
|                    |                                     | 91.5   | 0.422 |
|                    |                                     | 280.0  | 0.471 |

死コイについて。

(2) 結 果

その結果は第6図に示したとおりである。

ここで取りあげた斃死原因については、いづれも脳Ch-E活性値は通常値の範囲内であった。この他、実際の斃死事例で水酸化ナトリウム、ケイ酸ナトリウム、残留塩素、シアン、ベンゾール等による斃死においても通常値の範囲内であることを確認している。



第6図 有機リン剤以外の原因による斃死ゴイの脳Ch-E値

これら以外にも斃死原

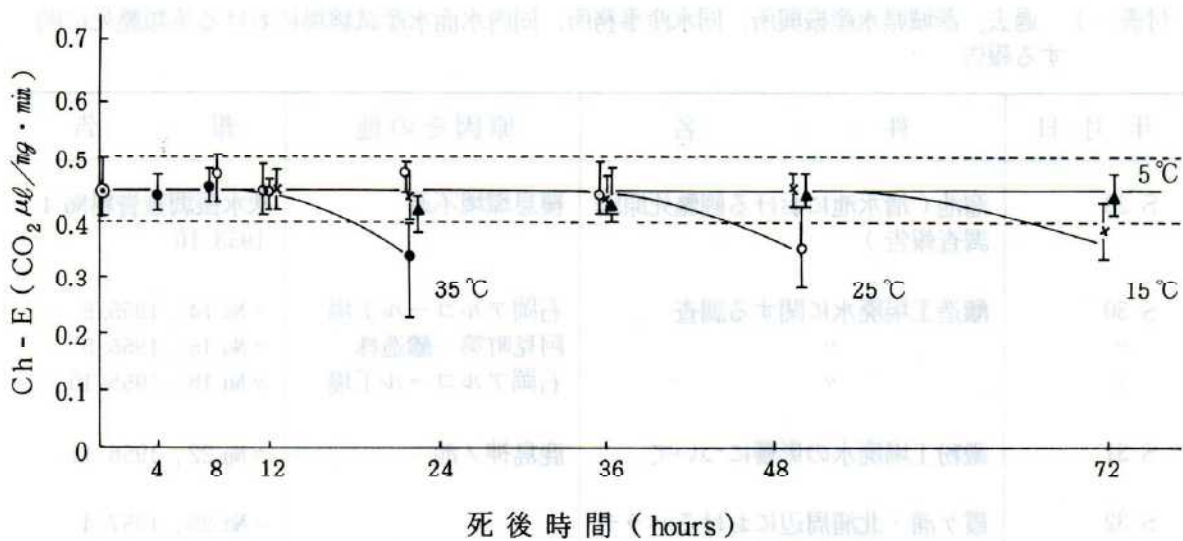
物質は無限とも言えるほどあるが、県内で発生したこれらの原因について見る限りにおいては、Ch-E活性の低下は有機リン系農薬、カーバメート系農薬による特異的な作用と見なせる。

5 死後時間経過に伴うCh-E活性の変化

これまでの斃死事例において、斃死発生から発見通報→保健所等による現場調査→内水試への検体の持ち込みに至るまで時間経過することが多く、特に夏期の高水温時においては、このことが検査に際してしばしば支障となる。こうした実情から脳Ch-Eの活性が死後どのくらいの時間安定であるか、前もって試しておく必要がある。

(1) 試験方法

体重30g~180gのコイを供試魚とし、撲殺後ただちに5℃、15℃、25℃、35℃のインキュベーター内水槽に20尾づつ入れ、4、8、12、22、36、50、72時間後におけるCh-E活性を測定した。なお、1回の測定には各試験区とも5尾づつ使用し、35℃については22時間まで、25℃については12~50時間、15℃については12~72時間、5℃については24~72時間の間でそれぞれ取り上げ測定を行なった。



第7図 コイ死後時間経過に伴う脳Ch - E活性の変化

## (2) 結果

その結果は第7図に示した。これによるとコイの脳Ch - E活性は35℃においては死後12時間まで、25℃においては36時間まで、15℃においては72時間後まで、5℃においては72時間以上、ほぼ安定であることが判明した。

15℃以下の水温では不活化されにくいことを示しているが、いづれにしても斃死魚屍体は新鮮なものの方がよく、また採取後ただちに冷蔵もしくは冷凍保存することが望ましいと思われる。

## 参考文献

- 1) 戸倉正人他(1970)有機リン剤の空中散布とボラの死亡, 水産増殖, Vol. 17, No. 5/6, P. 237 - 239。
- 2) 坂口宏海(1972)魚類に対する農薬の影響-I 日水誌, Vol. 38, No. 6
- 3) 続ワールブルグ検圧計
- 4) 実験化学講座 Vol. 24, 日本化学会編, 丸善
- 5) 西内康治他(1968), 農薬製剤の数種淡水産動物に対する毒性について-II, 水産増殖, Vol. 16, No. 1, P. 19 - 26。
- 6) Weiss(1961)水生生物と農薬-理論応用編, 金沢純・田中二良編著, サイエントリスト社, P. 183 - 184。

付表-1 過去、茨城県水産振興所、同水産事務所、同内水面水産試験場における魚類斃死に関する報告

| 年月日           | 件名   | 原因その他                                      | 報告                           |
|---------------|--|--|------------------------------|
| S 28          | 溜池（清水池における鯉斃死原因調査報告）                             | 棲息環境不適                                     | 茨水振調査資料No. 4<br>1953. 10     |
| S 30          | 醸造工場廃水に関する調査                                     | 石岡アルコール工場                                  | ” No. 14, 1955. 5.           |
| ”             | ”  | 阿見町第一醸造株                                   | ” No. 15, 1955. 5.           |
| ”             | ”  | 石岡アルコール工場                                  | ” No. 18, 1955. 10.          |
| S 31          | 澱粉工場廃水の影響について                                    | 鹿島神ノ池                                      | ” No. 22, 1956. 11.          |
| S 32          | 霞ヶ浦・北浦周辺におけるパラチオン剤の使用状況及び水産動物に及ぼす影響について          |  | ” No. 25, 1957. 4.           |
| ”             | ワラパルプ工場廃水に関する調査                                  | 東邦ワラパルプ間々田工場                               | ” No. 27, 1957. 11.          |
| S 36          | 農業用殺虫剤及び除草剤が水棲動物に及ぼす毒性について                       | エンドリン, ホリドール, BHC, PCP                     | ” No. 37, 1961. 6.           |
| ”             | 花火製造工場廃棄物が水棲動物に及ぼす毒性について                         | 下妻, 茨城火工株<br>原因物質不明<br>(微黄色溶液)             | ” No. 38, 1961. 6.           |
| S 37          | 堀割川澱粉工場廃水調査                                      |  | ” No. 41, 1962. 12.          |
| ”             | 神ノ池における澱粉工場廃水による水質汚濁調査                           |  | ” No. 42, 1962. 12.          |
| S 39          | 澱粉工場廃水による北浦北部の汚濁状況                               |  | ” No. 47, 1964. 10.          |
| S 41          | 北浦における澱粉工業廃水による水質汚濁調査                            |  | 茨水事資料 1966. 3.               |
| S 11. 8. 10   | 常陸川水門の操作が附近魚場の環境に及ぼす影響についてⅡ<br>常陸川におけるシジミの斃死について | 酸欠死  | 茨水事調研報告No. 8<br>1967. 3.     |
| S 42. 7. ~ 9. | アユ大量斃死の原因について                                    | 28℃ ≤<br>高水温 → A. liguefaciens<br>那珂川, 久慈川 | 東北大, 淡水研委<br>託調査報告 1968. 3.  |
| S 43. 9.      | コンクリート工場廃水の毒性について                                | 鬼怒川下館市川島地先                                 | 茨内水試調研報告<br>No. 10, 1969. 3. |
| S 46 春, 秋     | 霞ヶ浦周辺に発生した魚類のカビ病について                             | 真菌性肉芽腫症                                    | ” No. 11, 1973. 3.           |



| 年月日           | 件名                              | 原因その他  | 報告                 |
|---------------|---------------------------------|--|--------------------|
| S 47. 7. 16   | 那珂川のアユ斃死原因について                  | 高水温→A. liguefaciens (内部資料)                     |                    |
| S 48. 7 ~ 9.  | 霞ヶ浦における養殖ゴイの斃死について I            | 酸欠死  | " No. 12, 1974. 3. |
| S " 7. 28     | 北茨城市里根川におけるウグイ等の斃死原因について        | 不明   | (内部資料)             |
| S 49. 6 ~ 7.  | 霞ヶ浦における養殖ゴイの斃死について II           | 北浦・二重作<br>モリネート系除草剤<br>霞ヶ浦・古渡<br>酸性水<br>細菌性疾病? | " No. 12, 1974. 3. |
| " 7. 9 ~ 10.  |                                 |  |                    |
| " 7.          | 新川(新利根支流)における魚類斃死原因について         | 残留塩素?  | (内部資料)             |
| S 50. 3. 19   | 竜ヶ崎市破竹川の魚類斃死原因調査結果              | コンクリート凝固剤?<br>(ケイ酸ソーダ)                         | (内部資料)             |
| " 7.          | 溜沼水域等におけるボラ等の斃死魚発生原因についての考察     | 農薬(有機リン系殺虫剤: スミチオン)                            | (内部資料)             |
| " 9. 25       | 小野川及び古渡魚場附近における農地排水による魚類の斃死について | 塩害→酸性水   | " No. 14, 1977. 3. |
| S 51. 4. 27 ~ | 養殖ヤマメの白内障に関する研究 I, II           | 低水温その他?  | " No. 14, 1977. 3. |
| S 50. 4. 23   | 水海道ゲンゴロウブナの斃死原因について(つり堀)        | A. punctata?                                   | (内部資料)             |
| S 51. 5. 28   | 神ノ池におけるフナの斃死について                | 最終原因: A. punctata?                             | (内部資料)             |
| " 10. 8       | 那珂川(海門橋下)におけるマハゼボラ病魚の調査結果       | 真菌性肉芽腫症  | (内部資料)             |
| S 52. 10 ~    | 谷田部町, 四つ谷地内の池で発生した魚類体表の糜爛症状について | 真菌性肉芽腫症及び A. hydrophyla 合併症                    | (内部資料)             |
| " 4. 26       | 中丸川における魚類斃死原因について               | 残留塩素   | (内部資料)             |
| S 53. 8.      | 花貫川(花貫橋附近)における斃死魚・検査結果について      | 低Na症(アシドーシス)原因不明                               | (内部資料)             |

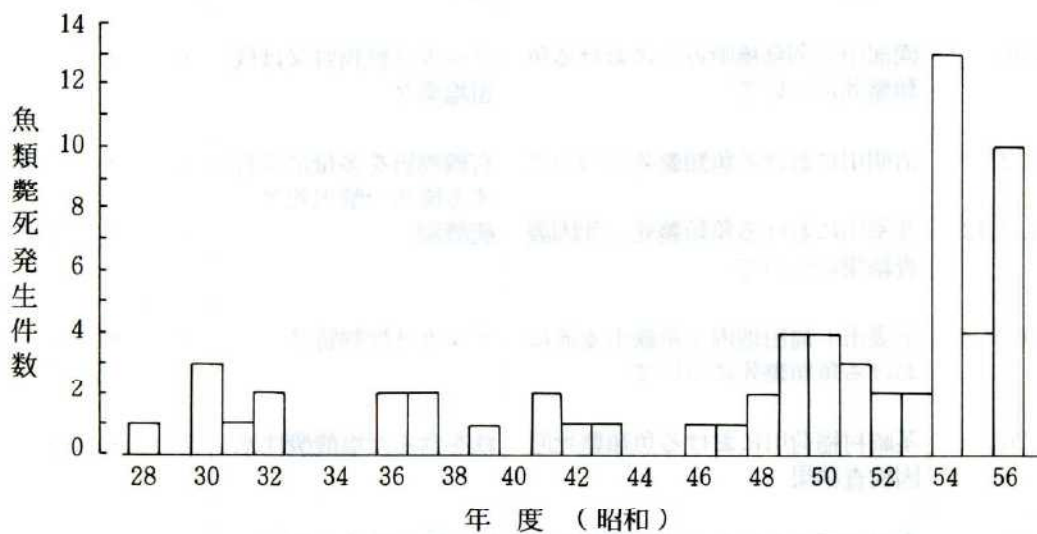
| 年月日         | 件名                        | 原因その他                    | 報告     |
|-------------|---------------------------|--------------------------|--------|
| S 9. 28     | 十王川（高田橋附近）における斃死魚検査結果     | アンモニア流出                  | （内部資料） |
| S 54. 3. 11 | 里根川及び花貫川における魚類斃死について      | 木材防腐剤（2-4-6トリクロルフェノールNa） | （ " ）  |
| " 1. 7      | 結城市田川における天然魚斃死原因検査結果について  | アルカリ性廃水                  | （ " ）  |
| " 4. 10     | 里根川，花貫川における魚類斃死について       | 2-4-6・トリクロルフェノールNa       | （ " ）  |
| " 4. 10     | 高橋川における魚類斃死について I，II      | 日本競馬会トレーニングセンター排水        | （ " ）  |
| " 4. 29     | 内原町「武具池」における養殖魚斃死について     | 除草剤（キャプタン80）             | （ " ）  |
| " 6. 14     | 谷田部町観賞ゴイ斃死原因について          | N <sub>2</sub> ガス        | （ " ）  |
| " 6. 25     | 北茨城市大北川「石岡堰」下におけるアユ斃死について | 農薬以外の毒物死？                | （ " ）  |
| " 8. 19     | 中丸川における魚類斃死原因について         | 酸欠？                      | （ " ）  |
| " 8. 21     | 久慈川（大子町）におけるアユ斃死について      | 土木工事より流出したアルカリ性水？        | （ " ）  |
| " 9. 3      | 鹿島町家庭観賞魚池におけるコイの斃死について    | 高密度，高水温による酸欠死？           | （ " ）  |
| " 9. 7      | 竜ヶ崎市「大正堀川」における魚類斃死について    | 廃水処理用凝集剤（PAC：ポリ塩化アルミニウム） | （ " ）  |
| " 10. 30    | 水海道市「八間堀川」における斃死魚について     | 農薬・酸性水以外の毒物死？            | （ " ）  |
| " 9～        | 常陸川，鱒川におけるカビ病魚について        | 真菌性肉芽腫症<br>一次原因は不明       | （ " ）  |
| S 55. 3. 7  | 総和町积水水路における魚類斃死について       | 残留塩素？                    | （ " ）  |
| " 2～4       | 県内の冷水魚養殖場において初め           | IHNウィルス                  | （ " ）  |

| 年月日         | 件名                                 | 原因その他                                   | 報告     |
|-------------|------------------------------------|---|--------|
|             | て発生確認されたIHNウィルス病について               |   |        |
| S 55. 4. 22 | 大子町「浅川」における魚類斃死について                | 2-4-6トリクロルフェノールNa                       | (内部資料) |
| " 6. 10     | 里根川における魚類斃死について                    | CN?                                     | ( " )  |
| S 56. 4. 8  | 那珂川(石塚)における魚類斃死について(放流サケ稚魚他)       | し尿処理廃水                                  | ( " )  |
| " 2~4       | 生板池(石岡市)における魚類の死因調査について(主にゲンゴロウブナ) | Costia(寄生虫) A. hydrophyla(細菌)<br>一次原因不明 | ( " )  |
| " 4. 25~28  | 下館市 伍行川における魚類斃死について(主にニゴイ)         | Cu <sup>II</sup>                        | ( " )  |
| " 4.        | 下館市 大谷川における赤味を帯びたドジョウについて          | 不明                                      | ( " )  |
| " 7. 13     | 涸沼におけるボラ稚魚の斃死, その他について(旭村)         | 空中散布有機リン系農薬キタジン, マラソン乳剤                 | ( " )  |
| " 8. 20     | 花貫川における魚類斃死について                    | し尿処理廃水→酸欠死?                             | ( " )  |
| " 8. 31     | 花室川における魚類斃死について                    | 残留塩素?                                   | ( " )  |
| " 9. 22     | 総和町下大野都市排水路における魚類斃死について            | Cr, Znを含む硫酸酸性水                          | ( " )  |
| " 8. 26     | 園部川(羽鳥橋附近)における魚類斃死について             | アルカリ性物質又は残留塩素?                          | ( " )  |
| " 11. 27    | 清明川における魚類斃死について                    | 有機物質を多量に含有する廃水→酸欠死?                     | ( " )  |
| S 57. 2. 12 | 花室川における魚類斃死, 死因調査結果について            | 硫酸銅                                     | ( " )  |
| " 4. 6      | 下妻市(福田地内)糸繰川支流における魚類斃死について         | アルカリ性物質?                                | ( " )  |
| " 4. 26     | 茎崎村稻荷川における魚類斃死原因検査結果               | 鉄を含んだ塩酸酸性水                              | ( " )  |
| " 3. 11     | 東村本新地先における魚類斃死について                 | 用水路掃除後の酸欠?                              | ( " )  |

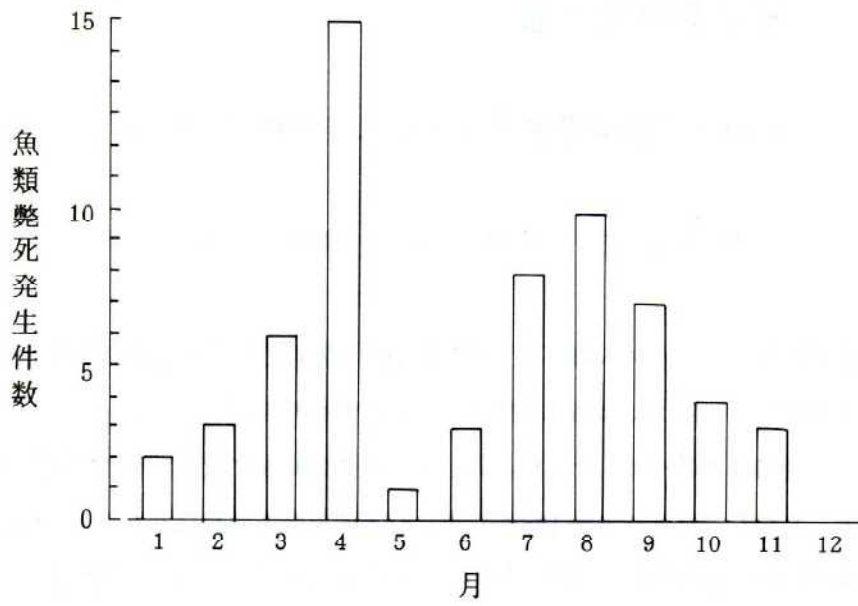
?印は疑いが強いもの, 或は可能性があるもの

付表-2 地域別魚類斃死検査件数(昭和47年~57年4月現在)

| 所轄保健所 | 発生場所 | 件数 | (計) | 所轄保健所 | 発生場所 | 件数    | (計)  |
|-------|------|----|-----|-------|------|-------|------|
| 水戸    | 那珂川  | 1  | }   | (2)   | 竜ヶ崎  | 大正堀川  | 1    |
|       | 武具池  | 1  |     |       | 破竹川  | 1     |      |
| 笠間    |      |    | }   | (0)   |      | 新川    | 1    |
|       |      |    |     |       |      | 小野川   | 1    |
| 那珂湊   | 那珂川  | 2  | }   | (4)   | 土浦   | 高橋川   | 1    |
|       | 中丸川  | 2  |     |       |      | 花室川   | 2    |
| 大宮    | 久慈川  | 1  | }   | (3)   | 石岡   | 清明川   | 1    |
|       | 那珂川  | 1  |     |       |      | 園部川   | 1    |
|       | 浅川   | 1  |     |       |      | 生板池   | 1    |
| 大子立   |      |    | }   | (0)   | 谷田部  | 稲荷川   | 1    |
|       |      |    |     |       |      |       | 四つ谷池 |
| 高萩    | 里根川  | 2  | }   | (11)  | 下館   | (一般)池 | 1    |
|       | 大北川  | 4  |     |       |      | 伍行川   | 2    |
|       | 大花貫川 | 4  |     |       |      | 大谷川   | 1    |
|       | 十貫王川 | 1  |     |       |      | 田川    | 1    |
| 鉾田    | 十瀬沼  | 2  | }   | (2)   | 下妻   | 糸線川   | 1    |
|       | 大谷川  | 2  |     |       |      | 市宮釣堀池 | 1    |
| 潮来    | 鹿島町池 | 1  | }   | (3)   | 水海道  | 积水水路  | 1    |
|       | 神ノ池  | 1  |     |       |      | 下大野水路 | 1    |
|       | 鱒川   | 1  |     |       |      |       |      |



付一第1図 魚類斃死原因検査件数



付一第2図 月別魚類斃死検査件数(昭和47年~57年4月現在)