

農薬のグッピーに対する急性毒性について

藤曲 正登 林 晃史

Acute Toxicity of Pesticides to the Guppy, *Poecilia reticulata*

Masato FUJIMAGARI and Akifumi HAYASHI

I 緒言

農薬の魚類に対する毒性を評価する方法は通常、「魚類に対する毒性試験法¹⁾」に基き、体長5cm程度のコイ稚魚を用いて試験した48時間後の半数致死濃度 (TLm : median Tolerance Limit) の値をもって行なわれている。試験魚としてコイが選定されたのは、コイが本邦において普通の魚で入手が容易であるとともに、養殖魚として重要種であることが主な理由となっている。しかし、体長5cm程度のコイ稚魚が入手できる時期は年間を通して限られており、試験を実施するにあたっての制約が大きい。また、産地や系統などの違いについては何ら考慮されない。また多くの実験例からコイは薬物に対する感受性が比較的低い魚であると考えられる²⁾。これらのことからコイ1魚種の試験結果をもって農薬の魚類に対する毒性を正しく評価することには多くの問題がある。このため供試魚種の選択や試験方法などについて、農薬の魚類に対する毒性試験を標準化するための様々な努力がなされてきた³⁾⁻⁵⁾。

われわれは卵胎性の熱帯魚としてごく普通に飼育されているグッピー *Poecilia reticulata* が、25℃前後の水温を保てば飼育が容易であり、年間を通して産仔が可能で、必要とする齢および大きさの魚が随時入手できることなどの実験動物としての利点に着目し、グッピーを用いた農薬の毒性試験法を検討してきた。グッピーを毒性試験に利用することは、農薬、重金属、発癌性物質など広く行なわれており⁶⁾⁻¹⁰⁾、実験用魚類として一般化されているが、他の魚種との相対的な評価を行うためにはまだ不十分なことが多い。そこで本報では各種農薬についてグッピーに対する急性毒性試験を行い、グッピーを他魚種との間の相対的な感受性レベルの位置付けを図るとともに、急性毒性症状としての骨折、内出血など異常症状

の発現の有無、生長にともなう感受性の変化などについて検討したので報告する。

II 実験材料および方法

1) 供試魚および薬剤

試験に用いたグッピーは千葉市葭川に生息していたものを1972年5月に採取し、当所において累代飼育を続けていたものである。各種農薬の急性毒性試験には生後4~7週目までの体長11mm±1mm、体重約0.02gの稚魚を用いた。またグッピーの生長にともなう薬剤感受性の変化を知るために、グッピーの生長過程から6つの時期を選び、それぞれについて毒性試験を行った。すなわち生後1~2週目の卵黄が消失し摂餌の開始される時期、4~7週目の稚魚期、性差の現れる直前10~14週目の垂成魚期、性差が明瞭となる4~5ヶ月目の若成魚期、盛んな繁殖力を示す成魚期および生後1年以上を経た老成魚期である。

供試薬剤は有機塩素系殺虫剤の r-BHC, DDT, dieldrin, 有機りん殺虫剤の ciazos, diazinon, fenitrothion, fenthion, malathion, pyridaphenthion, ビレスロイド系殺虫剤の allethrin, fenothrin, furamethrin, pht-halthrin, pyrethrin, resmethrin, およびビレスロイドの効力増強剤として用いられている共力剤の Synepirin-222, piperonyl butoxide, S-421, Synepirin-500の20種の農薬である。これらはいずれも原体について試験した。

2) 試験方法

試験方法は魚類に対する毒性試験法¹⁾と工場排水試験法¹¹⁾に準拠するよう条件を設定した。グッピーは産仔された後、試験を開始する直前まで25℃の循環ろ過式水槽で飼育し試験前2日間は餌止めした。試験容器は稚魚については底径14cm、高さ18cmのガラスポットを用い、水道水を活性炭ろ過してばっ気した試験水2000mlを入れ、これに稚魚20尾を放った。また成魚の試験は底径20cm、

高さ21cmのガラスポットに試験水5000mlを入れ、これに成魚10尾を放った。各薬剤とも原体をアセトンに溶解させ、毒性の強さに応じて10mg/ml, 1mg/ml, 0.1mg/mlとなるよう原液を調製し、所定の試験濃度になるよう希釈した。各濃度とも成魚については2回、稚魚については3回以上試験を反復した。試験期間中は容器を25℃の恒温室に静置し、24時間および48時間後の死亡魚数を数え、TLm値をDourdorfの方法に従い解図法で求めた。

III 結果および考察

1) 各種農薬のグッピー稚魚に対する急性毒性

各種農薬の24時間および48時間 TLm 値と、48時間後に死亡魚がみられた最小濃度を表1に示す。

表1. 各種殺虫剤, 共力剤の4~7週齢グッピーに対する急性毒性

| 供試薬剤 | 24時間 TLm値 | 48時間 TLm値 | 48時間最小死亡濃度 |
|--------------------|-----------|-----------|------------|
| 有機塩素系殺虫剤 | mg/l | mg/l | mg/l |
| γ-BHC | 0.16 | 0.11 | 0.056 |
| DDT | 0.21 | 0.14 | 0.075 |
| dieldrin | 0.029 | 0.017 | 0.01 |
| 有機リン系殺虫剤 | | | |
| ciafos | 22 | 20 | 10 |
| diazinon | 1.7 | 1.7 | 1.0 |
| diclorvos | 8.0 | 7.3 | 3.2 |
| fenitrothion | 4.8 | 4.6 | 2.4 |
| fentiion | 3.5 | 3.0 | 2.4 |
| malathion | 11 | 9.2 | 5.6 |
| pyridaphenthion | 9.2 | 8.6 | 1.0 |
| ピレスロイド系殺虫剤 | | | |
| allethrin | 0.12 | 0.11 | 0.1 |
| fenothrin | 0.23 | 0.072 | 0.032 |
| furamethrin | 0.092 | 0.087 | 0.056 |
| phthalthrin | 1.7 | 1.5 | 1.0 |
| pyrethrins | 0.027 | 0.022 | 0.018 |
| resmethrin | 0.035 | 0.035 | 0.024 |
| 共力剤 | | | |
| Synepirin 222 | 2.8 | 2.3 | 1.8 |
| piperonyl butoxide | 5.3 | 3.9 | 1.8 |
| S-421 | 1.9 | 1.4 | 0.75 |
| Synepirin 500 | 53 | 29 | 13.5 |

現在の殺虫剤の主流となっている低毒性有機リン系殺虫剤の48時間 TLm 値は最も小さい(魚に対する毒性は最も強い) diazinon において1.7mg/l, 最も TLm 値の大きい(魚に対する毒性は最も弱い) ciafos においては20mg/l であり, その他の薬剤は3~10mg/l の範囲内であった。また最小死亡濃度が1.0mg/l を下回るものはなかった。

有機塩素系殺虫剤3種はどれも毒性が強く, 特に dieldrin は今回試験した20薬剤の中で最も TLm 値が小さく最小死亡濃度も0.01mg/l であり, 有機リン剤の ciafos と比べ1000倍の差があった。

ピレスロイド系殺虫剤は phthalthrin を除いてはいずれも毒性が強く, 有機塩素剤と同等の毒性を示した。特に pyrethrins の0.022mg/l, resmethrin の0.035mg/l という TLm 値は dieldrin とほぼ同等の値である。今後農業用殺虫剤としてピレスロイド剤が広範囲に使用されていく場合, この魚毒性の強さは, 使用範囲が限定される重要な要因になると思われる。しかし, 一般にピレスロイド剤の毒性が強い中で phthalthrin の TLm 値 (1.5 mg/l) は diazinon と同等であり, 今回試験した6種のピレスロイドの中では特異的であった。

共力剤は本来単独では殺虫力のない薬剤として扱われ, 人畜毒性もきわめて低いことから魚類に対する毒性についてはほとんど考慮されていない。しかし, 今回試験した共力剤の中で Synepirin-222, piperonyl butoxide, S-421 の3種はいずれも有機リン剤と同じくらいの毒性であり, 特に S-421 は有機リン剤の中で最も強い diazinon よりもさらに強い毒性を示した。

農薬の魚類に対する毒性は原体により試験した TLm 値により評価, 検討が行なわれているが, 共力剤のように本来殺虫剤として扱われていない薬剤が強い毒性を有するとことは, 製剤での魚毒性試験がきわめて必要であることを示唆している。

試験の観察時間によって TLm 値が著しく変動することは試験時間を設定するうえで重要な問題である。表1より24時間および48時間後の TLm 値を比較してみると, fenothrin において約3倍の差がみられた以外に2倍以上の差のみられる薬剤はなかった。宮下⁷⁾は重金属の試験において同様の比較を行っているが, 重金属においても多くは24時間および48時間後の TLm 値の差は2倍以下となっている。

2) 異常症状の発見

自然界において発見される変形魚の, 有力な発生原因の一つとして有機リン系農薬が考えられている¹²⁾⁻¹⁴⁾。今回の試験においても有機リン剤4種, ピレスロイド剤3種に急性毒性症状と考えられる尾部椎骨の骨折, 湾曲, 内出血など外見上の異常症状が観察された。48時間後の観察でこれら症状の認められた薬剤と発見濃度について表2に示す。

表2. グッピーに骨折, 内出血などの異常症状を発現させる殺虫剤および発現濃度

| 供試薬剤 | 48時間 | 発現濃度域 | | 最多発現濃度 | 発現率 |
|-----------------|-------|-------|-------|--------|-----|
| | TLm値 | 最小値 | 最大値 | | |
| 有機リン系殺虫剤 | mg/l | mg/l | | mg/l | % |
| diazinon | 1.7 | 0.32 | 5.6 | 0.32 | 20 |
| fenthion | 3.0 | 2.4 | 3.2 | 2.432 | 10 |
| malathion | 9.2 | 1.8 | 24.0 | 18.0 | 16 |
| pyridaphenthion | 8.6 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 3 |
| ピレスロイド系殺虫剤 | | | | | |
| furamethrin | 0.087 | 0.056 | 0.18 | 0.135 | 15 |
| phthalthrin | 1.5 | 1.0 | 3.2 | 1.8 | 37 |
| resmethrin | 0.035 | 0.01 | 0.075 | 0.075 | 33 |

症状の発現する濃度は7薬剤とも48時間 TLm 値が、発現濃度域に含まれていた。diazinon と malathion は最小発現濃度が48時間 TLm 値の1/5という低濃度でもみられ、またピレスロイド剤の3種にも同様の症状がみられたことは、魚類に対する毒性の強さと考えあわせ、有機りん剤抵抗性害虫に対する代替殺虫剤としての実用化に関しては十分な検討が必要である。

3) グッピーの生長にともなう薬剤感受性の変化

農薬の毒性試験を行なうにあたり、魚種の選択と同時に、魚の生長段階が問題となる。稚魚期と成魚期では魚体の大きさだけでなく、生理性状が異なり、特に成魚期では雌雄の性差と繁殖という重要な要素が加わる。このことからみて魚類の生長過程での薬剤感受性の変化について検討を行い、試験の目的に合う時期の魚を選択することが必要である。

グッピーの生長段階を6つの時期にわけ、各段階における魚体長と、fenitrothion と resmethrin に対する感受性について検討した結果を図1, 2, 3に示す。一般に薬剤感受性は生長するに従って低下するものと考えられるが、試験した2薬剤についてみると、resmethrin の雌だけがこの傾向を示した。しかし雄および fenitrothion においては齢期の違いによる感受性の変化は、魚体長の変化と比較して明らかな差はみられず、両薬剤ともわずかであるが成魚期以降に感受性の高くなる傾向がみられた。

今回の報告は2薬剤だけの比較であるが、生長にともなう薬剤感受性の変化は薬剤によりそれぞれ異なる傾向をもっていることが推測される。

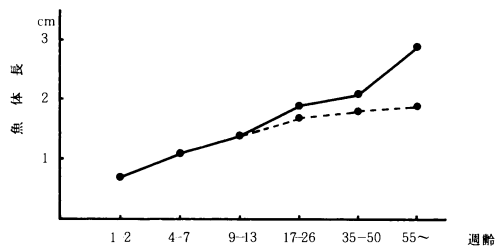


図1. グッピーの生長にともなう体長の変化

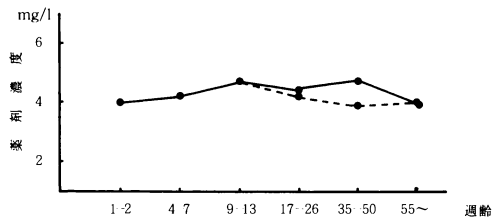


図2. グッピーの生長にともなう fenitrothion 感受性の変化 (TLm 値)

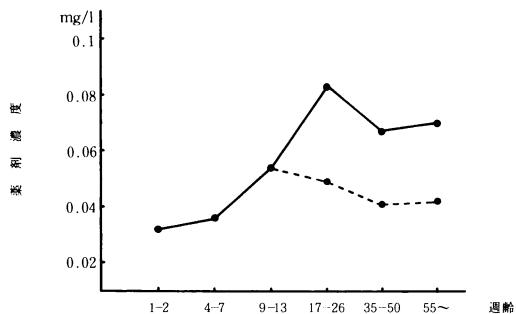


図3. グッピーの生長にともなう resmethrin 感受性の変化 (TLm 値)

IV 結論

4~7週齢のグッピーを用いて20種の農薬の急性毒性試験を行い、24時間および48時間後の TLm 値を求め、各薬剤の毒性について観察した。また異った生長段階のグッピーについて急性毒性試験を行い、各段階における TLm 値から生長にともなう薬剤感受性の変化について検討した。

(1) 有機りん系殺虫剤はいずれもグッピーに対する毒性が低く、最も毒性の強い diazinon の48時間 TLm 値は 1.7mg/l で、最小死亡濃度も 1.0mg/l を下回るものはない。

(2) 有機塩素系およびピレスロイド系殺虫剤は phthalthrin 以外は、グッピーに対して強い毒性を示した。最

も毒性の強いのは dieldrin であり, pyrethrins, resmethrin の毒性も強く, 毒性の最も低い ciafos と比較し, TLm 値, 最小死亡濃度において約 1000 倍の差があった。ピレスロイド剤の中で phthalthrin の毒性は特異的に低く, 有機りん系殺虫剤はいずれも有機りん系殺虫剤と同レベルであった。

(3) Synepirin-222, piperonyl butoxide, S-421 の 3 種の共力剤はいずれも有機りん系殺虫剤とほぼ同等の毒性を示した。

(4) 骨折, 内出血などの外見的な急性毒性症状が diazinon, malathion, fenthion, pyrida phenthion, pht-halthrin, furamethrin, resmethrin の 7 種の殺虫剤で観察された。特に diazinon は低濃度での発現率が高かった。

(5) グッピーの生長にともなう薬剤感受性の変化は薬剤によって異なる傾向がみられた。fenitrothion は生長段階, 雌雄とも明瞭な変化はみられなかったが resmethrin は生長にともなって感受性が低下し, 雌雄の差も明らかで, 約 2 倍雄の感受性が高かった。

以上のことより, グッピーは農薬の毒性試験の供試魚として毒性の比較, 急性毒性症状の観察にあたって適当な魚種と考えられる。また農薬の魚毒性試験は製剤に対しても検討し, 異常症状の発現も評価に加えられるべきと考える。生長段階の違いによる薬剤感受性の差は薬剤によって異なるため, 試験を行う年齢の選択は薬剤の毒性を評価するにあたって重要な問題と考えられる。

V 文献

- 1) 農林省農政局長通達：魚類に対する毒性試験法, 昭和 40 年度農政局長通達 B 第 2735 号, 1965.
- 2) 日本水産資源保護協会：水産環境水質基準, 29-40, 1972.
- 3) 田端健二：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(10), 1297-1303, 1972.
- 4) 西内康浩：農薬製剤の数種淡水動物に対する毒性-XIV, 水産増殖, 20(2), 59-67, 1972.
- 5) 安野正之, 畠山成久：水生生物による毒性物質影響評価の試み, 生態化学, 3(4), 3-13, 1981.
- 6) 広瀬吉則, 安野正之：グッピーの稚魚による数種の殺虫剤の毒性試験について, 衛生動物, 30(2), 167-171, 1979.
- 7) 宮下 衛：グッピーの稚魚を用いた重金属類の急性毒性試験, 日本公衛誌, 24(7), 423-429, 1977.
- 8) 藤曲正登, 大田原純子, 片山信二：グッピーに及ぼすカドミウムの慢性毒性に関する研究 (第 1 報) カドミウムの蓄積, 背椎骨の異常および遊泳能力の低下, 日本公衛誌, 21(10), 587-591, 1974.
- 9) 石川隆俊, 高山昭三：発癌モデルとしての魚類, 化学と生物, 14(6), 414-418, 1976.
- 10) 矢崎広久, 藤曲正登, 福田芳生：マイコトキシンの生体作用, アフラトキシンによるグッピー *Lebistes reticulatus* の発癌, 千葉衛研年報, 21, 105-109, 1972.
- 11) 日本規格協会：魚類による急性毒性試験, 工場排水試験方法 JIS・K0102-1971, 154-157, 1971.
- 12) 金沢 純：魚の背椎骨変形と農薬, 科学, 46(2), 108-115, 1976.
- 13) 隆島史夫：魚類における体形異常の実験的発症例, 水産増殖, 26(4), 183-190, 1979.
- 14) 竹下忠昭, 森下直知：再びボラの奇病 (斃死) について, 島根医学, 5(1), 88-97, 1972.