ドジョウに対する PCP の毒性, とくに 濃度と浸漬時間の関係^{1, 2}

長 沢 純 夫・柴 三 千 代

イハラ農薬研究所

(1968年6月20日受領)

Toxicity of PCP for the “Dojo” fish, *Misgurnus anguillicaudatus* (CANTOR), with special reference to the relation between concentration and immersion time. Studies on the biological assay of chemicals in fishes. V. Sumio NAGASAWA and Michiyo SHIBA (Ihara Agricultural Chemicals Institute, Shimizu) *Jap. J. appl. Ent. Zool.* **13**: 47-51 (1969)

In this paper, the toxicity of PCP-Na for the “Dojo” fish was discussed through results obtained by a regression method, taking into consideration the immersion time of the fish and the concentrations of the testing solution. The fish ranged from 0.4 to 12.7g in weight. Their weights were determined by taking the difference in weight of a vial with testing solution and the same vial with solution and a fish. Data on dead or alive were recorded individually. Immersion time in the testing solution was controlled by washing the whole test vial, including the fish, in running water. From the data of 87 combinations of concentrations (ppm) per weight (g) of fish C and time of immersion T (min.), together with indications of whether or not the fish responded, an equation for fitting a probit regression plane was estimated as: $Y = -5.1725 + 3.3485x_1 + 5.6678x_2$. Here x_1 and x_2 are $\log C$ and $\log T$ respectively and Y is the probit probability of response P . Results of the χ^2 test showed no significant difference between the empirical probits and the predictions from the fitted equation. The 5% fiducial limit curves ($t=1.96$) for $P=0.5$ and 0.9 were calculated and were shown in the figures.

野外においてみられる農薬による魚類の斃死は、その稀薄な液中に長時間接触することによるものから、突発的に流入する濃厚溶液にわずか接触したためにおこるものまでがある。いずれにしても薬液の濃度と、これに接触する時間の関係は、致死を決定する要因として最も重要である。今回、PCP のドジョウに対する毒性を、この見地から検討することを目的に、個体別にその生死を記録する実験を行ない、その結果をプロビット平面に表現する方法によって解析した。その結果をここに報告する。

実験材料および方法

供試魚：この実験に用いたドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* (CANTOR) は市販品で、その大きさは 0.4 ~ 12.7g の範囲にあった。実験に用いる前の2日間、10°C 前後の流水中においた。雌雄の区別はおこなわなかった。

供試薬剤：Pentachlorophenyl (PCP) のナトリウム塩は純度90%の工業製品で、これを有効成分含有量にもとづいて、所要の濃度に水で稀釈して用いた。

実験方法：直径9cm 高さ5cm のガラス容器に、所

1 魚毒試験に関する研究 第5報。

2 本報の概要は、日本応用動物昆虫学会東海支部、日本昆虫学会東海支部合同講演会 (1965年11月27日、金谷) において発表した。

第1表 ドジョウの目方に対する PCP の濃度 C と浸漬時間 T およびその生 (—), 死 (+) の関係をしめす実験結果

C	T	生死	C	T	生死	C	T	生死	C	T	生死
17.65	38	+	7.46	6	—	12.50	34	+	15.39	30	+
11.11	6	—	22.73	33	+	15.00	9	+	6.06	6	—
18.75	9	—	11.11	43	+	6.35	29	+	6.25	20	+
7.50	57	+	26.32	15	+	9.09	14	—	80.00	10	+
11.11	77	+	50.00	4	—	9.52	8	—	30.77	14	+
6.35	69	+	100.00	8	—	36.36	26	+	25.00	15	+
10.00	77	+	36.36	6	—	22.22	16	+	26.67	16	+
2.99	40	+	25.00	3	—	16.67	21	+	57.14	18	+
3.92	40	+	55.56	6	—	20.00	15	+	23.81	11	+
11.77	64	+	10.00	4	—	9.26	17	+	20.00	14	+
8.70	13	—	62.50	7	—	8.93	7	—	21.74	12	—
2.13	43	+	55.56	2	—	38.46	26	+	71.43	15	+
2.50	43	+	31.25	5	—	4.72	19	+	38.46	18	+
6.25	52	+	0.53	60	—	13.95	30	+	46.15	10	+
11.11	12	—	4.55	71	—	12.00	19	+	35.29	10	+
7.14	59	+	0.53	76	—	2.86	31	—	21.43	14	+
1.19	27	—	0.69	84	+	1.56	35	—	42.86	17	+
0.53	51	—	25.00	29	+	16.67	9	—	46.67	10	+
1.11	43	—	29.17	16	+	2.13	32	—	63.64	12	+
0.60	28	—	7.50	38	+	3.33	9	—	20.59	15	+
2.38	37	—	12.00	26	+	3.64	29	+	35.00	19	+
14.71	48	+	4.04	33	+	5.13	20	—			

要濃度の PCP 溶液 200 ml をとってその目方をはかり、つぎにドジョウを投入してその目方を測定、その増加量をもってドジョウの体重とした。投入後網蓋をかぶせて放置し、所定時間後に容器ごと流水中に入れて、約1時間水洗した。この薬液に投入してから水洗までの時間を浸漬時間とした。水洗後これを実験室の環境条件下において、24時間後にその生死を観察した。この実験は1965年2月9～11日に行なったもので、実験時の水温は12～13°C であった。

実験結果および考察

PCP 水溶液の濃度 (ppm) をドジョウの体重 (g) で割った値を、計算のための便宜的な単位 C とし、87個体についてえられた、浸漬時間 T (分) および生 (—), 死 (+) の関係をしめしたのが第1表である。第1図はこれを図示したもので、白丸は生、黒丸は死を表わす。これにみるように C および T の両方が小さいときは、いずれの場合も白丸、すなわち生 (—) であり、 C , T いずれか一方が大きい場合は、とくに一方がきわめて小さい場合をのぞいて、黒丸、すなわち死 (+) となっている。そしてその中間においては、生存個体に対する致死個体の比率は、 C または T が増大するにつれてたか

第1図 ドジョウに対する PCP の毒性、体重あたりの薬液の濃度 C と浸漬時間 T の関係。黒丸は致死個体、白丸は生存個体。曲線は上から両投量の組み合わせによって 90, 75, 50, 25 および 10% の致死率を表わす平面の形をしめす。

まっている。

このような形においてえられた実験結果を解析する方法については、人体生理学の分野において、指の皮膚にみられる一過性の血管収縮反射を、容積描記装置を用いて測定した実験結果を例に、FINNEY (1947) がプロビットによって解析する方法を詳細に論述した。そして長

沢・柴 (1965) もさきにチャバネゴキブリがデルドリンに接触する時間と、その濃度のさまざまな組み合わせによっておこる生死の関係を記録した結果に対し、同様の解析をこころみた。第 1 表の結果を同じ手法で解析し、農薬の魚類に対する毒性検定のためのひとつの方法を考察することとする。

まず第 1 表の C および T の対数を、それぞれ x_1 , x_2 としてしめたのが第 3 表第 1, 2 欄の数値であるが、この x_1+x_2 値について、0.5 の間隔で、かつ 0.1 ずつずらして重複した形で、主死の個体数を類集、その反応率のプロビットと、これに対応する各階級の中央値の関係をグラフの上に打点し、予備回帰線をひいて、その方程式

$$Y = 1.0 + 2.0(x_1 + x_2)$$

をもとめた。第 2 表はその順序をしめたものである。つぎにこの式の x_1+x_2 に第 3 表第 1, 2 欄の値をいれて、第 3 表第 3 欄の Y の値が期待プロビットとしてえられる。これから常法のプロビット計算をくりかえして順次補正された方程式をもとめて行くのであるが、第 3 表の第 3 欄にしめた Y は、第 1 回の補正計算の結果えられた

$$Y = -2.051 + 2.3873x_1 + 3.9428x_2$$

の方程式の、 x_1 および x_2 に第 3 表第 1, 2 欄の値を代入してえられた期待プロビットである。この Y に対応する重み係数 w (第 4 欄) は表からよみとったもので、また計算のためのプロビット、すなわち working probit y は、致死、生存それぞれ 100% および 0% の反応率をしめす実験値であるから、致死個体の場合は Y に対

応する最大値 $Y+Q/Z$ 、生存個体の場合は最小値 $Y-Q/Z$ をもちいれたい。第 5 欄の数値がそれである。後は表の後半および下段に示すように、偏差の加重平方和および積和をもとめる。これから偏回帰係数 b_1 および b_2 をもとめるための連立方程式

$$\begin{cases} 11.030138b_1 - 4.946212b_2 = 8.899808 \\ -4.946212b_1 + 3.637810b_2 = 4.056195 \end{cases}$$

をえる。行列式

$$V = \begin{pmatrix} v_{11} & v_{12} \\ v_{21} & v_{22} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.232292 & 0.315839 \\ 0.315839 & 0.704327 \end{pmatrix}$$

をみちびき、 $v_{12}=v_{21}$ であるから、これから

$$\begin{aligned} b_1 &= 8.899808v_{11} + 4.056195v_{12} \\ &= 3.348459 \end{aligned}$$

同様に

$$b_2 = 5.667794$$

をえる。これからもとめる方程式

$$Y = \bar{y} + b(x_1 - \bar{x}_1) + b_2(x_2 - \bar{x}_2)$$

のそれぞれに、計算された上述の数値を代入することによって

$$Y = -5.1725 + 3.3485x_1 + 5.6678x_2$$

がえられる。これは第 1 回の補正計算の結果とは、なおかなり相違していて、より正確な数値をのぞむ場合は、さらに第 3 回、第 4 回の補正計算が必要である。しかし FINNEY (1947) によってしめされた方法によって適合性の検定をおこなった結果は、

$$\chi^2 = Sy^2 - b_1Sx_1y - b_2Sx_2y = 34.929$$

となり、これは $Pr=0.05$, $n=87-3=84$ における χ^2 の値よりはるかに小で、実験値と計算によってもとめた方程式とは、抽出誤差の範囲内で一致しているとみなすことが可能である。それゆえ、ひとまず上述の方程式をもととして、つぎの考察をすすめることとする。

上の式の Y に 5 を代入すると致死率 50% のえられる x_1 と x_2 の関係がえられる。すなわち

$$3.8485x_1 + 5.6678x_2 = 10.1725$$

ゆえに任意の C をとって、それを対数変換して x_1 に代入すれば、その C において 50% の致死率のえられる浸漬時間の対数値がえられる。その逆対数値をもとめれば、これが浸漬時間となる。同様に Y に 3.7184, 4.3255, 5.6745, 6.6449 の値をいれた場合には、それぞれ 10, 25, 75, 90% の致死率のえられる x_1 と x_2 の関係がもとめられる。第 1 図の曲線は、 C と T の組み合わせによって、そうした致死率のえられる軌跡をしめたものである。この図をもちいることによって両要因の関係は、容易に把握することが可能である。

第 2 表 予備回帰線の計算

x_1+x_2	致死個体数 供試個体数	致死率	反 応 率 の プロビット	予備回帰方 式からもとめた 期待プロビット
1.2-1.6	2/13	0.15	4.0	3.8
1.3-1.7	3/14	0.21	4.2	4.0
1.4-1.8	4/19	0.21	4.2	4.2
1.5-1.9	6/22	0.27	4.4	4.4
1.6-2.0	10/26	0.39	4.7	4.6
1.7-2.1	12/28	0.43	4.8	4.8
1.8-2.2	13/29	0.45	4.9	5.0
1.9-2.3	13/25	0.52	5.1	5.2
2.0-2.4	18/28	0.64	5.4	5.4
2.1-2.5	19/28	0.68	5.5	5.6
2.2-2.6	25/31	0.81	5.9	5.8
2.3-2.7	23/28	0.82	5.9	6.0
2.4-2.8	31/35	0.89	6.2	6.2
2.5-2.9	27/30	0.90	6.3	6.4
2.6-3.0	25/26	0.96	6.8	6.6

第3表 第2回目の補正計算の過程

x_1	x_2	Y	w	y	wx_1	wx_2	wy
1.25	1.58	7.2	0.09	7.59	0.1125	0.1422	0.6831
1.05	0.78	3.5	0.27	2.98	0.2835	0.2106	0.8046
1.27	0.95	4.7	0.62	3.70	0.7874	0.5890	2.2940
0.88	1.76	7.0	0.13	7.42	0.1144	0.2288	0.9646
1.05	1.89	7.9	0.02	8.21	0.0210	0.0378	0.1642
0.80	1.84	7.1	0.11	7.51	0.0880	0.2024	0.8261
1.00	1.89	7.8	0.02	8.12	0.0200	0.0378	0.1624
0.48	1.60	5.4	0.60	6.34	0.2880	0.9600	3.8040
0.59	1.60	5.7	0.53	6.48	0.3127	0.8480	3.4344
1.07	1.81	7.6	0.04	7.94	0.0428	0.0724	0.3176
0.94	1.11	4.6	0.60	3.66	0.5640	0.6660	2.1960
0.33	1.63	5.2	0.63	6.28	0.2079	1.0269	3.9564
0.40	1.63	5.3	0.62	6.30	0.2480	1.0106	3.9060
0.80	1.72	6.6	0.24	7.09	0.1920	0.4128	1.7016
1.05	1.08	4.7	0.62	3.70	0.6510	0.6696	2.2940
0.85	1.77	7.0	0.13	7.42	0.1105	0.2301	0.9646
0.08	1.43	3.8	0.37	3.21	0.0296	0.5291	1.1877
-0.28	1.71	4.0	0.44	3.34	-0.1232	0.7524	1.4696
0.05	1.63	4.5	0.58	3.62	0.0290	0.9454	2.0996
-0.22	1.45	3.1	0.15	2.66	-0.0330	0.2175	0.3990
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
1.30	1.15	5.6	0.56	6.42	0.7280	0.6440	3.5952
1.34	1.08	5.4	0.60	3.62	0.8040	0.6480	2.1720
1.85	1.18	7.0	0.13	7.42	0.2405	0.1534	0.9646
1.59	1.26	6.7	0.21	7.17	0.3339	0.2646	1.5057
1.66	1.00	5.9	0.47	6.59	0.7802	0.4700	3.0973
1.55	1.00	5.6	0.56	6.42	0.8680	0.5600	3.5952
1.33	1.15	5.7	0.53	6.48	0.7049	0.6095	3.4344
1.63	1.23	6.7	0.21	7.17	0.3423	0.2583	1.5057
1.67	1.00	5.9	0.47	6.59	0.7849	0.4700	3.0973
1.80	1.08	6.5	0.27	7.02	0.4860	0.2916	1.8954
1.31	1.18	5.7	0.53	6.48	0.6943	0.6254	3.4344
1.54	1.28	6.7	0.21	7.17	0.3234	0.2688	1.5057
総 計			34.02		33.3105	42.8421	178.3849
平 均					0.9791	1.2593	5.2435

$Snwx_1^2$	$Snwx_1x^2$	$Snwx_2^2$	$Snwx_1y$	$Snwx_2y$	$Snwy^2$
43.644449	37.000488	57.588867	183.556464	228.696300	1023.080793
32.614311	41.946700	53.951057	174.656656	224.640105	935.361223
11.030138	-4.946212	3.637810	8.899808	4.056195	87.719570

第2図は x_1 および x_2 の任意の組合せに対応する期待プロビット Y の variance を $V(Y)=1/Sw+v_{11}(x_1-\bar{x}_1)^2+2v_{12}(x_1-\bar{x}_1)(x_2-\bar{x}_2)+v_{22}(x_2-\bar{x}_2)^2$ の式からもとめ、有意水準 0.05 における normal deviate $t=1.96$ を、これにかけた $t\sqrt{V(Y)}$ によって、50%の致死率のえら

れる C と T 両者の組み合わせの、軌跡の信頼限界をしめしたもので、その限界は両端に行くにしたがってせばまっている。また第3図は90%の致死率のえられる軌跡の信頼限界をしめすもので、この場合は上限の幅は下限の幅よりもひろい。図には示さないが、10%の場合は

第2図 PCP がドジョウの50%を死にいたらしめる体重あたりの濃度 C と浸漬時間 T の関係。上下の破線は $Pr=0.05$ における信頼限界。

第3図 PCP がドジョウの90%を死にいたらしめる体重あたりの濃度 C と浸漬時間 T の関係。上下の破線は $Pr=0.05$ における信頼限界。

この上限、下限の幅の関係は逆になる。

なおここで浸漬薬液の濃度を体重で割り、体重あたりの薬液の濃度を考察のための基礎数値としたが、これは致死濃度は体重に正比例するという、すなわち BLISS (1936, 1961) の提唱する体重換算の size factor h が -1 である場合を前定にして計算をすすめたものである。ドジョウの場合は、さきに長沢ら (1963) によって示されたように、この h は -0.288 となり、厳密には供試個体の体重と浸漬薬液の濃度とは別個に考え、さらに浸漬時間をくわえた3要因からなる、多重回帰方程式をもとめることによって、より妥当な考察ができるかもしれない。いずれにしても魚類は一般にその大きさの変異の幅がかなりひろく、薬物の生物試験に際してはその大きさを考慮にいった実験、ないしはその結果の解析が必要であることをここに強調したい。

摘 要

野外においてみられる農業による魚類の斃死は、その稀薄な液中に長時間接触することによるものから、突発的に流入する濃厚溶液に、わずかに接触したためにおこるものまでがあり、その生死は、これらの総和の多少によってきまらざるである。PCP のドジョウに対する毒性を、この見地から検討することを目的に、浸漬法によっ

て、生死を個体別に記録し、その結果をプロビット平面にえがいて解析した。浸漬薬液の濃度 (ppm) を体重 (g) で割った便宜的な計算のための単位 C と、接触時間 (分) T の対数を、それぞれ x_1 , x_2 とすると、致死率のプロビット Y との関係は、 $Y = -5.1725 + 3.3485x_1 + 5.6678x_2$ の方程式をもって表現することができた。 χ^2 検定の結果は、 $\chi^2_{(84)} = 34.929$ となり、実験値と計算値とは、抽出誤差の範囲内で適合することが証明された。 $P=0.5$ および 0.9 の信頼限界を計算して図にしめた。

引用文献

- BLISS, C. I. (1936) The size factor in the action of arsenic upon silkworm larva. J. Exptl. Biol. 13: 95~110.
- BLISS, C. T. (1961) Lecture note. 165pp.
- FINNEY, D. J. (1947) The estimation from individual records of the relationship between dose and quantal response. Biometrika 34: 320~334.
- 長沢純夫・浅野昌司・近藤和信 (1963) ドジョウに対する PCP の毒性とくに Size factor の算定. 応動昆 7: 300~305.
- 長沢純夫・柴三千代 (1965) 個体別記録による Dieldrin のチャバネゴキブリに対する残留毒性の評価. 防虫科学 30: 115~119.