<論 文>

汚染物質毒性評価のための指標海産魚選定

小山次朗* 黒島良介* 石松 惇**

The Seawater Fish for Evaluation of the Toxicity of Pollutants

Jiro KOYAMA*, Ryosuke KUROSHIMA* and Atsushi ISHIMATSU**

* Environmental Conservation Division, National Research Institute of Fisheries Science, 6-31-1, Nagai, Yokosuka 238-03 Japan

** Nomo Fisheries Station, Nagasaki University, Nomoaki, Nishisonoki, Nagasaki 851-05 Japan

Abstract

In order to evaluate toxicities of pollutants to seawater fish, we examined suitable fishes for acute toxicity test. Larvae and juveniles of seven seawater fish species which are easy to rear or collect, were exposed to cadmium (Cd) and fenitrothion (MEP) for 96 hours.

While we could not calculate 72 and 96h LC₅₀ of larvae because of their mortality of control over 10% after 48 hours, all early juveniles showed incipient LC₅₀s or 96h LC₅₀s. Based on the incipient LC₅₀ or 96h LC₅₀, the order of the LC₅₀ of each fish to the pollutants were the following.

- 1) Cd: *C. dolichognathus* > *G. punctata* > *A. schlegeli* > *M. cephalus* > *E. japonica* > *P. major*
- 2) MEP: *C. dolichognathus* > *M. cephalus*, *P. olivaceus* > *G. punctata* > *P. major* > *A. schlegeli*

The red sea bream (*P. major*) showed the lower incipient LC₅₀s of Cd and MEP in 163mg and 510mg body weights, respectively. Based on the sensitivity to the pollutants by incipient LC₅₀ or 96h LC₅₀ and its availability, the early juvenile of red sea bream is considered the best among the fishes examined for acute toxicity test.

Key words: seawater fish, acute toxicity test, incipient LC₅₀, Cd, MEP

1. はじめに

現在、我々の周囲では種々の化学物質が使用され、一方、毎年新規化学物質が出現しており、その使用頻度が高くなるに伴ってこれらの物質の環境水中への流出の可能性が高くなっている。これらの物質中には魚類等の水生生物に対し、毒性を発揮するものもあり、したがってこれらの化学物質の水生生物に対する毒性を予め評価しておく必要がある。その評価法の一つである魚類を用いた急性毒性試験法の主なものには、日本の工場排水試験方法 (JIS K0102)¹⁾、米国の Standard methods²⁾、OECD 法³⁾、FAO 法⁴⁾、ヨーロッパの

EIFAC 法⁵⁾等がある。これらの方法で推奨されている供試魚は、コイ、メダカ、ブルーギル等の淡水魚が主であり、試験条件等も淡水魚を使用することを念頭に置いている。一方、ダイアジノン、PAP 等有機リン系農薬では海産魚で得られた半数致死濃度 (以下 LC₅₀) が淡水魚 (コイ、ヒメダカ等) に比較して低く^{6),7)}、また淡水魚 (bluegill) と海産魚 (tidewater silversides) での比較では、多くの化学物質に対する感受性が淡水魚に比較して海産魚で若干高いこと⁸⁾、さらに種々の塩分濃度に馴致したマミチヨグ (*Fundulus heteroclitus*) の naphthalene に対する感受性が塩分濃度に伴って増大すること⁹⁾等から、汚染物質に対する感受

* 水産庁中央水産研究所環境保全部 〒238-03 神奈川県横浜市長井 6-31-1

** 長崎大学水産学部附属水産実験所 〒851-05 長崎県西彼杵郡野母崎町

性に淡水魚と海産魚間で差のある可能性が指摘されており、海産魚による急性毒性試験法の確立が望まれているところである。そのため、第一に海産魚中で急性毒性試験に適した魚種を選定する必要がある。しかし、既存試験法では供試魚の選定理由として単に「試験物質に対する感受性が高い」等を挙げるにとどまり、具体的な選定方法を示しているものはない。本研究では供試物質としてカドミウム (Cd) および有機リン系農薬のフェニトロチオン (MEP) を選び、急性毒性試験のための供試魚の選定方法を検討し、わが国沿岸に生息する海産魚種の中から急性毒性試験に適した指標魚種およびその成長段階を選定することを目的とした。

2. 実験方法

2.1 供試魚種の選定

Standard methods²⁾における魚類を用いた急性毒性試験方法および我々の飼育経験から、供試する魚種の主な選定理由として

- 1) 感受性が高い
- 2) 飼育しやすい

3) 同程度の大きさの個体を同時に多数供給できるが挙げられる。この他に産業的および生態学的重要性等も挙げられているが、ここではある特定の地域に影響を及ぼす工場排水等ではなく、ある特定の物質の毒性評価を行うための試験方法を検討したため、選定理由として前述の3つのみを挙げ、これによって指標魚種およびその指標成長段階を選定することとした。

選定理由の第3である「類似サイズの多数供給」は、種苗生産の対象となっている魚種あるいは沿岸等で容易に採取可能な魚種を対象とすることによって満足できる。これらの魚種の中から第2の選定理由である「飼育のしやすい魚種」を選定した。その結果、選定の対象となる魚種をマダイ *Pagrus major*, クロダイ *Acanthopagrus shlegeli*, ヒラメ *Paralichthys olivaceus*, カタクチイワシ *Engraulis japonica* (以上は種苗生産の対象あるいは種苗生産可能な魚種), メジナ *Girella punctata*, アゴハゼ *Chasmichthys dolichognathus* およびボラ *Mugil cephalus* (以上は沿岸域で容易に採取できる魚種) の計7種とした。いずれの魚種も、感受性が高いと一般的に言われている仔稚魚を用いた。

2.2 試験魚および供試物質

実験に用いたマダイおよびクロダイはその仔稚魚を神奈川県および静岡県栽培漁業協会から購入し、カタクチイワシは親魚から採卵し、孵化後飼育し、ヒラメは日本栽培漁業協会宮津事業所等より購入した卵を孵化、飼育した個体をそれぞれ用いた。一方、メジナ、アゴハゼおよびボラは中央水産研究所横須賀庁舎付近

の磯で採取した個体を用いた。

各供試魚の成長段階は Table 1 および 2 に示すとおりであった。メジナおよびボラは稚魚期、アゴハゼは稚魚期および若魚期の個体のみ採取されたが、種苗生産可能なマダイ、クロダイ、カタクチイワシおよびヒラメについては、種々の成長段階の入手が可能であったため仔魚期から稚魚期の個体を用いた。供試魚の体長は、その最大全長が最小全長の1.5倍以内になるように揃えた。一部の魚種では全長および体重を平均値のみで示したが、その他は平均値±標準偏差で示した。

供試物質として、重金属の中でも比較的毒性の強いカドミウム ($\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) および毒性はあまり強くないものの農耕地および都市部等広範に使用されている有機リン系農薬の一種フェニトロチオン (MEP 乳剤, 日本農薬製) を選定した。

2.3 急性毒性試験

急性毒性試験法は、主に工場排水試験方法¹⁾および Standard Methods²⁾に準拠した。供試魚として、1週間の予備飼育後、実験開始前1日間絶食させた個体を用い、各水槽 (5~20l ガラス水槽) には10個体の供試魚を収容し、96時間の曝露実験を行った。この時、Cd 急性毒性試験で体重2g以上の個体を用いたマダイの2例、メジナおよびクロダイの1例を除き、各水槽の供試魚収容密度は、 $1\text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下とした。なお、収容密度を超えた前述の4例でもエアレーションを充分行っており、Table 1 に示すように溶存酸素濃度が充分高いことから、実験条件に問題はなかったものと考えられる。実験水温は、各魚種の適正実験水温が明らかではなかったため、工場排水試験方法¹⁾および Standard methods²⁾で定められている温水魚の試験水温範囲内になるようにおおむね22~25°Cに調温した。ただしヒラメの実験水温は、調温機能が充分でなかったため16~24°Cと広範囲にわたった。各魚種の実験条件は、Table 1 および Table 2 に示した。

Cd 急性毒性試験では、塩化カドミウム ($\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) を蒸留水に溶解した試験原液 ($10,000\text{mgCd} \cdot \text{l}^{-1}$) を、供試魚の大きさに応じて5~20lのガラス水槽中の海水に添加して5~8段階の濃度区を調製した。各水槽への試験原液の添加量は最大で20ml程度であり、海水の塩分濃度に影響することはほとんどなかった。実験期間中、試験水のCd濃度に変化が認められなかったため、試験水の換水を行わない止水式で試験を行ったが、溶存酸素濃度の低下を防ぐため常時エアレーションを行った。

MEP 急性毒性試験もCdと同様に、MEP 乳剤を蒸留水に添加した試験原液 ($1,000\text{mgMEP} \cdot \text{l}^{-1}$) を海水に添加し、5~8段階の濃度区を調製した。MEP 乳剤

Table 1 Test conditions of Cd acute toxicity tests and LC₅₀ of Cd

species	Water Temp. (°C)	Dissolved oxygen conc. (mg·l ⁻¹)	Total length (mm)	Body weight (mg)	LC ₅₀ (mg·l ⁻¹)			growth stage
					24h	48h	96h	
<i>P. major</i>	22.2±0.5*	>7.0	3	0.14	41.8	18	7.9	yolk sac larva
	22.2±0.4	>6.9	3	0.14	5.9	3.9	-**	yolk sac larva
	23.0±0.4	>6.9	4.4	0.75	11.9	6.4	-	larva
	23.0±0.4	>6.8	6.5	2.8	6.8	-	-	larva
	23.0±0.4	>6.9	9.1± 1.2*	10.5	6.5	5.0	-	larva
	24.8±0.2	>7.9	22 ± 4.9	163 ± 76*	0.78	0.67	0.65	juvenile
	24.0±0.9	>6.5	24 ± 5.7	197 ± 171	1.2	-	-	juvenile
	24.6±1.1	>7.2	33 ± 6.4	509 ± 380	1.5	1.2	1.0	juvenile
	24.9±0.9	>6.1	34 ± 6.4	679 ± 416	19.3	16.2	13.3	juvenile
	24.6±0.2	>7.6	47 ±10	1762 ±1126	23.8	16.3	11.6	juvenile
	24.6±0.2	>7.6	52 ± 8.5	2295 ±1322	-	-	10.3	juvenile
	25.0±0.7	>6.0	64 ± 9.2	4690 ±2333	27.5	22.6	19.5	juvenile
<i>G. punctata</i>	24.3±0.7	>6.0	25 ± 4.2	180 ± 110	31.0	23.0	17.0	juvenile
	24.3±0.9	>6.1	44 ± 5.0	1180 ± 460	37.0	34.0	27.0	juvenile
	24.3±0.7	>5.9	53 ± 4.2	2100 ± 778	42.0	31.0	27.5	juvenile
	24.6±1.0	>6.9	55 ± 5.7	2480 ± 778	51.0	44.0	29.5	juvenile
<i>A. schlegeli</i>	23.2±0.2	>7.8	5.9	1	5.4	-	-	larva
	23.2±0.2	>7.7	9.1	5	5.2	-	-	larva
	23.2±0.2	>7.1	16 ± 2.8	40 ± 23	4.6	2.3	-	juvenile
	23.2±0.2	>7.4	22 ± 5.3	153 ± 100	8.3	8.4	7.0	juvenile
	23.2±0.2	>7.8	27 ± 3.5	276 ± 107	25.9	18.6	17.0	juvenile
	23.2±0.5	>7.8	32 ± 7.1	459 ± 233	23.2	17.2	15.5	juvenile
	24.5±0.2	>7.7	49 ± 4.2	1680 ± 566	33.5	26.0	21.8	juvenile
	23.2±0.2	>7.8	62 ± 5.7	3240 ± 979	38.0	33.0	19.7	juvenile
<i>M. cephalus</i>	24.6±0.4	>7.8	17.6± 3.5	38 ± 27	8.3	6.6	6.6	juvenile
	24.7±0.8	>7.8	29 ± 5.7	236 ± 140	12.9	8.4	8.0	juvenile
	24.5±0.7	>6.7	39 ± 5.7	634 ± 310	20.2	16.9	16.6	juvenile
	23.2±0.5	>7.6	45 ± 7.8	852 ± 506	22.5	17.1	14.9	juvenile
<i>C. dolichog- nathus</i>	24.0±0.9	>5.4	14.7± 3.5	21 ± 14	24.4	17.7	5.5	juvenile
	24.3±0.3	>4.0	20 ± 3.5	57 ± 29	32	24.5	17.2	juvenile
	25.2±0.4	>6.3	29 ± 5.7	211 ± 136	37.6	31.5	30.5	young
	24.9±0.9	>6.6	40 ± 7.1	576 ± 343	-	39.5	35.0	young
	25.0±0.7	>5.9	49 ± 6.4	1150 ± 530	-	32.5	31.0	young
	24.6±0.2	>7.8	51 ± 5.7	1256 ± 549	-	36.4	28.5	young
<i>E. japonica</i>	21.4	>7.2	11 ± 2.3	4 ± 1.7	10.7	13.8	-	larva
	21.4	>7.2	24 ± 6.1	56 ± 44	6.8	-	-	larva
	21.4	>7.2	34 ± 3.7	193 ± 85	2.2	-	-	larva
	25.1	>6.3	60 ± 4.9	1180 ± 495	7.1	6.0	-	juvenile

* : mean±SD, ** : LC₅₀ could not be calculated

の有効濃度は50%であった。調製24時間後の試験水のMEP濃度が、調製直後のその約80%まで減少したため、24時間毎に試験水を全量換水する半止水式で試験を行った。また、予備実験で、エアレーションによ

て MEP 濃度の減少速度が速くなったため、実験中のエアレーションは行わなかった。

LC₅₀は、各観察時間毎の累積死亡個体数から probit 法あるいはグラフ法により算出した。試験水の Cd 濃

Table 2 Test conditions of MEP acute toxicity tests and LC₅₀ of MEP

species	Water Temp. (°C)	Dissolved oxygen conc. (mg·l ⁻¹)	Total length (mm)	Body weight (mg)	LC ₅₀ (mg·l ⁻¹)			growth stage
					24h	48h	96h	
<i>P. major</i>	24.4±0.4*	>6.2	24 ± 3.5*	180 ± 82*	0.71	0.34	—**	juvenile
	24.5±0.9	>5.0	34 ± 3.5	510 ± 172	—	0.74	0.35	juvenile
	24.5±0.1	>4.4	38 ± 2.1	790 ± 59	1.51	1.11	0.76	juvenile
<i>G. punctata</i>	24.9±0.9	>6.0	22	92	0.99	0.69	0.52	juvenile
	24.4±0.4	>6.3	30	337	1.90	1.40	0.95	juvenile
	24.4±0.8	>5.2	38	680	2.00	1.70	1.30	juvenile
<i>A. schlegeli</i>	25.7±0.2	>5.6	18 ± 0.9	66 ± 12	0.87	0.51	0.18	juvenile
	25.2±0.3	>5.2	30 ± 1.4	370 ± 61	0.86	0.64	0.39	juvenile
	24.9±0.3	>4.5	39 ± 2.9	870 ± 157	1.24	1.01	0.59	juvenile
	24.5±0.2	>3.5	48 ± 6.4	1660 ± 566	1.79	1.40	0.98	juvenile
<i>M. cephalus</i>	24.6±0.9	>6.5	22 ± 2.1	91 ± 31	—	1.94	1.37	juvenile
	23.5±0.1	>5.7	34 ± 1.6	340 ± 57	1.40	0.91	0.24	juvenile
	24.0±0.1	>5.3	38 ± 1.3	480 ± 76	1.60	1.19	0.76	juvenile
	22.9±0.7	>4.7	43 ± 2.1	860 ± 140	1.61	0.60	0.67	juvenile
<i>C. dolichognathus</i>	24.7±0.8	>4.7	20	62	1.80	1.30	0.91	juvenile
	25.5±0.9	>4.9	29	234	1.80	1.60	1.10	young
	25.0±0.9	>5.0	39	598	2.40	1.90	1.30	young
	24.5±0.2	>6.0	47	1054	—	2.00	1.50	young
<i>P. olivaceus</i>	16.6±0.8	>5.2	4.4	0.6	0.8	—	—	larva
	19.6±0.8	>6.7	7.0	3.5	0.98	0.70	0.26	larva
	20.2±2.1	>5.7	9.6	7.2	0.97	0.89	0.58	larva
	21.0±1.1	>7.8	12.2	14.9	1.56	1.33	1.08	larva
	17.4±1.0	>5.3	11.6	16.1	1.03	—	—	larva
	21.8±1.1	>4.7	16.7	40	1.61	1.05	0.62	juvenile
	20.0±2.1	>6.6	18.0	50	1.42	1.22	1.10	juvenile
	22.9±1.1	>5.6	19.4	62	1.67	1.44	0.96	juvenile
	23.0±1.5	>5.4	22.8	73	1.59	1.45	0.99	juvenile
	23.0±1.3	>5.5	26.8	181	1.53	1.48	0.82	juvenile
	23.8±1.6	>6.0	30.2	223	2.07	1.09	0.66	juvenile

* : mean±SD, ** : LC₅₀ could not be calculated

度は、実験開始時および終了時に採取した海水について原子吸光度計で測定した。両試料のCd濃度はほとんど同じであり、両者の平均値を実験濃度とした。一方、MEPの濃度は、試験水調製直後および24時間後の換水直前に採取した海水からヘキサンのよって抽出し、炎光光度形検出器付きガスクロマトグラフ（島津GC-5A）によって測定した。MEPの濃度測定は4回行い、その平均値を実験濃度とした。ただしヒラメのMEP急性毒性試験ではその濃度を測定しなかったため、設定濃度によりLC₅₀を算出した。

3. 結 果

Table 1 に示すように、Cdの急性毒性試験を行った結果、体重0.14~10.5mgのマダイ、1~40mgのクロダイおよび4~1,180mgのカクチイワシではほとんどの場合、48時間以降に対照区の個体の死亡率が10%以上となったため、48h LC₅₀までのみ求められた。これらの成長段階は、40mgのヒラメおよび1,180mgのカクチイワシを除けばすべて仔魚期に当たる。これらの魚種の他の成長段階あるいは他魚種のほとんどは稚魚期以降の個体を用いており、いずれも96h LC₅₀

Table 3 The ranges of Cd and MEP 96h LC₅₀s of fishes

species	Body weight (mg)		96h LC ₅₀ (mg•l ⁻¹)		Incipient LC ₅₀ (mg•l ⁻¹)	
			minimum	maximum	minimum	maximum
Cd						
<i>P. major</i>	0.14	-4690	0.65 (163mg)*	19.5 (4690mg)*	0.65 (163mg)*	19.5 (4690mg)*
<i>G. punctata</i>	180	-2480	17 (180mg)	29.5 (2480mg)	17 (180mg)	29.5 (2480mg)
<i>A. schlegeli</i>	1	-3240	7 (153mg)	22.8 (566mg)	7 (153mg)	22.8 (566mg)
<i>M. cephalus</i>	38	- 852	6.6 (38mg)	16.6 (634mg)	6.6 (38mg)	16.6 (634mg)
<i>C. dolichognathus</i>	21	-1256	5.5 (21mg)	35 (576mg)	30.5 (211mg)	35 (576mg)
<i>E. japonica</i> **	4	-1180	6 (1180mg)	13.8 (4mg)	6 (1180mg)	13.8 (4mg)
MEP						
<i>P. major</i>	180	- 790	0.35 (510mg)	0.76 (790mg)	—***	—
<i>G. punctata</i>	92	- 680	0.52 (92mg)	1.3 (680mg)	—	—
<i>A. schlegeli</i>	66	-1660	0.18 (66mg)	0.98 (1660mg)	—	—
<i>M. cephalus</i>	91	- 860	0.24 (340mg)	1.37 (91mg)	0.67 (860mg)	1.37 (91mg)
<i>C. dolichognathus</i>	62	-1054	0.91 (62mg)	1.5 (1054mg)	1.10 (234mg)	1.5 (1054mg)
<i>P. olivaceus</i>	3.5	- 223	0.26 (3.5mg)	1.1 (50mg)	0.66 (223mg)	0.82 (181mg)

* : The body weight showing minimum and maximum 96h and incipient LC₅₀. ** : 48h LC₅₀. *** : The incipient LC₅₀ could not be determined.

まで求めることができた。一方、Table 2 に示した MEP の急性毒性試験ではほとんどの魚種で稚魚期以降の個体を用いており、体重180mg のマダイを除き、すべて96h LC₅₀まで求めることができた。ただしヒラメでは仔魚期である体重3.5, 7.2および14.9mg の個体でも96h LC₅₀を求めることができたが、同様に仔魚期の0.6および16.1mg のヒラメでは24時間以降に対照区の個体の死亡率が10%以上となったため、24h LC₅₀のみ求められた。

魚種別96h LC₅₀の範囲を Table 3 に示した。MEP-ヒラメの場合を除き、96h LC₅₀の最小値を示す各魚種の成長段階はすべて稚魚期であり、さらに Cd-カタクチイワシおよび MEP-ボラを除けば、最大値を示す成長段階よりも初期のものであった。メジナ、ボラおよびアゴハゼのように供試魚を磯からのサンプリングに頼らざるを得ない魚種では、稚魚期以降の個体のみ採取可能であったため、毒性試験の結果が稚魚期以降に限定されたが、Table 3 に示した各魚種の96h LC₅₀の最小値は、いずれも稚魚期の最小あるいはそれに次ぐサイズで得られた。各魚種の Cd 96h LC₅₀の最大値の範囲は、13.8~35mg·l⁻¹であり、魚種間の差は大きくはなかった。一方、同様に最小値の範囲は0.65~17mg·l⁻¹であり、その差は大きかった。これはマダイの最小値0.65mg·l⁻¹が、他の魚種に比較して著しく低い値であったためである。供試した6魚種の中で最大、最小値とも比較的小さな値を示した魚種はマダイのみであった。また MEP についても同様に見る

と、最大、最小値とも Cd に比較して魚種による差は小さく、マダイおよびクロダイが最大、最小値とも比較的小さな値を示した。

供試魚平均体重と LC₅₀との間には、Fig. 1 および 2 に示す関係が得られた。Fig. 1 に示した Cd による急性毒性試験の場合、仔魚期である体重10.5mg までのマダイ、5 mg までのクロダイおよび56mg までのカタクチイワシの LC₅₀は大きく変動した。その後、稚魚期の LC₅₀は体重増加に伴って増大し、体重679mg 以上のマダイおよび276mg 以上のクロダイではほぼ一定となる傾向を示した。カタクチイワシについては実験例数が少ないが、マダイおよびクロダイと同様に体重193mg 以上の仔魚期後期から稚魚期の LC₅₀の変動はほとんどなく、体重56mg 以下の仔魚期のそれに比較して小さいものであった。また、すべて稚魚期の個体を用いたメジナおよびボラの LC₅₀は体重1180mg および634mg 以上で一定となった。一方、アゴハゼの LC₅₀は、体重21および57mg の稚魚期では体重増加に伴い増大し、体重211mg 以上の若魚期に一定となった。

マダイ、クロダイおよびカタクチイワシでは仔魚期の Cd LC₅₀が、稚魚期初期の値に比較して高くなることが観察された。例えば体重0.14mg のマダイ(前期仔魚期)の96h LC₅₀が7.9mg·l⁻¹であったのに対し、体重163mg のマダイ(稚魚期)の96h LC₅₀は0.65mg·l⁻¹と低い値を示した後、体重増加に伴って高くなった。このことはこれらの魚種では汚染物質に対する感受性が

Fig. 1 The relationship between body weight and median lethal concentration (LC_{50}) of Cd

成長に伴って単純に低下するのではなく、仔魚期において一時的に感受性が低くなり、その後高くなり、最も高い感受性を示した後、成長に伴って感受性が低下する傾向を示したものである。これは、前期仔魚期から後期仔魚期にかけては卵黄吸収終了および開口が関与し、さらに後期仔魚期から稚魚期にかけての感受性増加は、成長に伴うCd吸収速度上昇の結果としてのCd蓄積量増大¹⁰⁾等が関係しているものと考えられる。このような現象は淡水魚であるコイでも報告されている¹¹⁾。

MEPによる急性毒性試験の場合、ほとんどの魚種で稚魚を用いており、 LC_{50} は体重増加に伴って増大する傾向を示した。用いた体重範囲ではマダイおよびクロダイの LC_{50} は一定にはならなかった。一方、体重337mg以上のメジナおよび480mg以上のボラの LC_{50} は、ほぼ一定となった。また、体重16.1mgまでの仔魚期のヒラメの LC_{50} は体重増加に伴って増大し、稚魚期となる体重40mg以上で一定となる傾向が認められた。変態期である体重7.2~16.1mgのヒラメ仔魚の LC_{50}

は、変態によると思われる変化を示さなかった。さらに稚魚期および若魚期の個体を用いたアゴハゼの LC_{50} は、用いた体重範囲内では大きな変動を示さなかった。

各魚種に対するCdの毒性曲線を、体重別にFig. 3に示した。これらの毒性曲線は、ある体重以上で時間軸(縦軸)に漸近し、Incipient LC_{50} (またはAsymptotic LC_{50} , Threshold LC_{50} , Ultimate LC_{50})を示す傾向が認められた。用いた供試魚がすべて稚魚期であったボラおよびメジナでは、すべての成長段階で96時間後までにIncipient LC_{50} を求めることができた。また、仔魚期および稚魚期の個体を用いたマダイ、クロダイおよびカクチイワシでは、孵化後1日目の前期仔魚期(体重0.14mg)のマダイを除き、仔魚期では72および96h LC_{50} を求めることができず、Incipient LC_{50} も求めることができなかった。しかし、これらの魚種も稚魚期個体を用いた実験ではほとんど96時間後までにIncipient LC_{50} を求めることができた。一方、稚魚および若魚期の個体を用いたアゴハゼでは、体重211

Fig. 2 The relationship between body weight and median lethal concentration (LC_{50}) of MEP

mg 以上の若魚期に Incipient LC_{50} が得られた。

Fig. 4 に示した MEP 毒性曲線によれば、稚魚期の個体を用いた体重 92mg のメジナ、181 および 223mg のヒラメ、91 および 860mg のボラならびに 234mg のアゴハゼでのみ、Incipient LC_{50} が得られ、その他の成長段階あるいは魚種では Incipient LC_{50} を求めることはできなかった。しかし、いずれの魚種も時間に対する LC_{50} の変化は、稚魚期では比較的小さかった。

4. 考 察

本研究で供試した魚種は、急性毒性試験のための供試魚種の選定理由である「飼育しやすい」および「類似サイズの多数供給」を満足するものである。したがってこれらの魚種から供試魚種を選定する要因は、汚染物質に対する感受性の高さである。一般に、より成長段階の初期の個体の感受性が高いといわれており、淡水魚の early life stage toxicity test について多くのデータを示した McKim の報告¹²⁾によると、魚類で最

も高い感受性を示す成長段階は孵化仔魚から稚魚期の初期とされている。したがって、各魚種の仔、稚魚期の個体の被験物質に対する感受性、つまり LC_{50} の高低を魚種間で比較し、感受性の最も高い (LC_{50} の最も低い) 魚種を選定することが妥当と考えられる。

本研究で用いた仔魚期のマダイ、クロダイ、カタクチイワシおよびヒラメの Cd および MEP に対する LC_{50} は、ほとんど 48h LC_{50} までしか求められなかった。これは曝露開始 24 あるいは 48 時間後に対照区の死亡率が 10% 以上となり、既存急性毒性試験法^{1)~5)}に定められたように対照区死亡率を 10% 以下に維持できなくなったためであり、これは試験に伴う絶食のためと考えられる。一方稚魚期以降の供試魚を用いた場合、ほとんど 96h LC_{50} まで求められた。安全性を考え、試験結果としてより低い濃度の毒性を把握するためには、より長時間の LC_{50} を求める必要があり、少なくとも 96h LC_{50} の求められる成長段階で実験を行うべきである。しかも得られた 96h LC_{50} までの値と時間の関係を

Fig. 3 The toxicity curve of Cd.

The numerals in figure show mean body weights (mg)

表す毒性曲線を求めたところ、多くの場合、稚魚期以降に毒性曲線が時間軸に漸近し、Incipient LC_{50} を示した(Fig. 3, 4)。この値は、曝露時間をさらに延長しても供試魚の死亡率が増加しない濃度であり、被験物質の慢性毒性を推定する上できわめて有用な値となる^{2), 4), 13)}。もし、毒性曲線が時間軸に漸近していない場合、曝露時間を延長すればさらに低い LC_{50} が求められることとなり、このように不確定な値に基づいて魚種間の感受性を比較することは、結論を誤る可能性がある。したがって、Incipient LC_{50} の求められることを基準として、供試する成長段階を決定する必要がある。ただし、MEP 急性毒性試験では Incipient LC_{50} を求められなかった例が認められたため、これらの魚種では 96h LC_{50} の求められることを基準として供試する成長段階を決めることとした。以上のことから、稚魚期以

降の供試魚では Cd および MEP とも Incipient LC_{50} あるいは 96h LC_{50} を求めることができている、したがって供試する成長段階は稚魚期以降が適当と考えられる。

Table 3 に 96h LC_{50} および Incipient LC_{50} の最小および最大値ならびにそれぞれの体重を示した。これによれば Cd の場合、最小および最大値ならびにその体重が 96h LC_{50} および Incipient LC_{50} の間でほとんど同じ値であり、最小値を示す成長段階が稚魚期の初期に当たることから、Incipient LC_{50} の最小値で魚種間の感受性比較を行うのが適当と考えられる。したがって感受性はマダイ >> カタクチイワシ > ボラ > クロダイ > メジナ > アゴハゼ、の順となった。これらの魚種で特に感受性の高いマダイを含め、比較的感受性の高かったカタクチイワシ、ボラおよびクロダイで得られた

Fig. 4 The toxicity curve of MEP.

The numerals in figure show mean body weights (mg)

Incipient LC_{50} ($0.65 \sim 7 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) を, *Fundulus heteroclitus* 等の他の海産魚で得られた96h LC_{50} ($21 \sim 78 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$)^{14)~16)}と比較すると, 本研究で用いた魚種の感受性の高いことがわかる。また, 淡水魚 (fathead minnow 等) で得られた96h LC_{50} ($0.63 \sim 2.34 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$)¹⁷⁾と比較すると淡水魚の感受性が若干高いが, 海水中の Ca 等が Cd の毒性を低下させていると考え, 同一魚種について硬水 (硬度360) で得られた96h LC_{50} ($66 \sim 73.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$)¹⁷⁾と比較すると本研究で用いた魚種の感受性の高いことが分かる。

MEP の場合, 全魚種で Incipient LC_{50} が得られているわけではないが, Incipient LC_{50} の得られなかったマダイ, メジナおよびクロダイの LC_{50} は, Fig. 4 に示すように24時間から96時間まで余り大きな低下を示さな

かったことから, Incipient LC_{50} の代わりに96h LC_{50} を用いることとした。その結果, マダイ, メジナおよびクロダイの96h LC_{50} ならびにボラ, アゴハゼおよびヒラメの Incipient LC_{50} の最小値を示す成長段階が, いずれも稚魚期の初期に当たることから, これらの値によって魚種間の感受性比較を行った。その結果, クロダイ > マダイ > メジナ > ボラ, ヒラメ > アゴハゼ, の順であった。他の海産魚に対する MEP 原体の毒性試験データがないため海産魚間の比較はできないが, 淡水魚 (コイ, キンギョ等) で報告されている48h LC_{50} ($0.75 \sim 8.2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, 大部分が $3.4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上)¹⁸⁾ と本研究で比較的高い感受性を示したクロダイ, マダイおよびメジナの48h LC_{50} ($0.51 \sim 0.74 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) を比較すると後者の感受性の高いことが分かる。

以上のことから、Cd および MEP に対して共通して高い感受性を示した魚種は、マダイおよびクロダイであることが分かった。両魚種とも Cd および MEP に対して他の海産魚あるいは淡水魚よりも高い感受性を示しており、またその稚魚期初期（マダイで体重160～500mg、クロダイで体重60～150mg 程度）が最も高い感受性を示した。一方、両魚種とも種苗生産魚種であるものの、マダイが秋田県から沖縄県までの23県（ほぼ全国的に）で種苗生産されているのに対し、クロダイが神奈川県から熊本県までの9県でのみ種苗生産されている¹⁹⁾ことから、現時点では稚魚期初期のマダイが、Cd および MEP あるいはこれらに類似の物質の急性毒性試験の指標海産魚種として適当と考えられる。

（原稿受付 1992年5月31日）

（原稿受理 1992年9月7日）

参 考 文 献

- 1) 日本規格協会 (1986) JIS K0102-1986 工場排水試験方法, 862-865, 日本規格協会, 東京.
- 2) APHA-AWWA-WPCF (1989) Standard methods for the examination of water and wastewater, 17th edition, American Public Health Association, Washington, DC.
- 3) 勸化学品検査協会 (1984) OECD Guidelines for Testing of Chemicals (日本語版), 857-866, 第一法規出版, 東京.
- 4) FAO (1987) Manual of methods in aquatic environmental research, Part10-Short term static bioassay.
- 5) EIFAC (1975) Report on fish toxicity testing procedures.
- 6) 広瀬啓二, 橘川宗彦 (1976) 農薬の海産魚に対する急性毒性, 特に TL_m 値と脊椎骨異常に關いて, 東海区水産研究所研究報告, 第84号, 11-20.
- 7) 奈良正人, 山下一臣 (1973) 農薬の海産魚に対する毒性—I, 静岡県水試研報, 6, 45-52.
- 8) Dawson, G.W., Jennings, A.L., Drozdowski, D. and Rinder, E. (1975/1977) The acute toxicity of 47 industrial chemicals to fresh and saltwater fishes, *J. Hazardous Materials*, 1, 303-318.
- 9) Levitan, W.M. and Taylor, M.H. (1979) Physiology of salinity-dependent naphthalene toxicity in *Fundulus heteroclitus*, *J. Fish. Res. Board Can.*, 36, 615-620.
- 10) Kuroshima, R., Kimura, S., Date, K. and Yamamoto, Y. (1992) Kinetic analysis of cadmium toxicity to red sea bream (*Pagrus major*), *Ecotoxicol. Environ. Safety*, in press.
- 11) 木村関男 (1980) 魚類に対する有害物質の毒性評価試験で気付いた2, 3の問題点, さかな, 24, 37-44.
- 12) McKim, J.M. (1977) Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity, *J. Fish. Res. Board Can.*, 34, 1148-1154.
- 13) Office of toxic substances, Office of pesticides and toxic substances, U.S. Environmental Protection Agency (1982) Technical support document for fish acute toxicity test, 3-4.
- 14) Eisler, R. (1971) Cadmium poisoning in *Fundulus heteroclitus* (Pisces; Cyprinodontidae) and other marine organisms, *J. Fish. Res. Board Can.*, 28, 1225-1234.
- 15) Middaugh, D.P. and Dean, J.M. (1977) Comparative sensitivity of eggs, larvae and adults of the estuarine teleosts, and *Menidia menidia* to cadmium, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 17, 645-652.
- 16) Voyer, R.A. (1975) Effect of dissolved oxygen concentration on the acute toxicity of cadmium to the mummichog, *Fundulus heteroclitus* (L.) at various salinities, *Trans. Am. Fish. Soc.*, 1, 129-134.
- 17) Pickering, Q.H. and Henderson, C. (1966) The acute toxicity of some heavy metals to different species of warm-water fishes, *Air Water Poll. Int. J.*, 10, 453-463.
- 18) 田中二良 (1978) 水生生物と農薬-急性毒性資料編, 119-120, サイエンティスト社, 東京.
- 19) 財団日本栽培漁業協会 (1992) 栽培漁業種苗生産, 入手・放流実績 (全国), 水産庁・日本栽培漁業協会.