蚊幼虫天敵魚グッピーの汚水に対する耐性に関する観察¹⁾

栗原 毅* 佐々 学**

宮本 詢子** 佐藤 英毅***

* 帝京大学医学部寄生虫学教室 (東京都板橋区加賀)

** 東京大学医科学研究所寄生虫研究部 (東京都港区白金台)

*** 徳島市防蚊対策研究室 (徳島市幸町)

(受領: 1973年 5月28日)

Studies on the tolerance of the guppy, *Poecilia reticulata*
(Peters), a natural enemy of mosquito larvae, to the
septic pollution of water

Takeshi KURIHARA,* Manabu SASA,** Junko MIYAMOTO**
and Hideki SATO***

* Department of Parasitology, Teikyo University School of Medicine,
Itabashi-ku, Tokyo

** Department of Parasitology, Institute of Medical Science, Univer-
sity of Tokyo, Minato-ku, Tokyo

*** Laboratory for Mosquito control, Tokushima

はじめに

グッピー *Poecilia reticulata* (Peters, 1859) は南米熱帯原産の胎生メダカ科の淡水魚で、鑑賞用にほぼ全世界に移出されているが、それらが南アジアの都市の下水だまりや、日本の温泉排水などの汚水に繁殖してアカイエカなどの幼虫の天敵として役立っていること、またハワイなどで示されたように下水の腐敗性有機物除去にも利用しうるなど、環境衛生面での価値が認められつつある。この魚がアジア在来の淡水魚の各種に比べて汚水に強く、それらの住みつけない下水などによく繁殖するという現象がどのような生理、生態を背景としているかを知るために若干の実験をおこなった。

一がい汚水といっても、その状況はきわめて多様であり、実際的には各個の例について検討を必要とするが、ここでは食品などに由来する腐敗性有機質の混入による汚水を考え、汚染源としては栄養価にとみ、成分が安定している材料の一例として実験動物飼育用固形飼料を用

いた。その一定量を水中に投入し、いろいろな条件でグッピーを放したさいに水質がどう変化するか、とくにグッピーが水の腐敗阻止にどう役立つかについての定量的な観察については別に佐々ら (1973) の報告にまとめたので、ここにはこのような人工汚水に対するグッピーの耐性の問題を中心にした実験成績を記載する。

実験の材料と方法

実験に使用したグッピーは主として伊豆の蓮台寺温泉の排水に繁殖していたコロニーを当研究部の水槽でさらに飼育繁殖させた系統である。そのほか、千葉市の堀に自生する系統、Bangkok の下水だまりに繁殖していた系統なども供試したが、これら諸系の間にはこの種の実験に関する限り性質の差は認められなかった。

腐敗源として用いた固形飼料は日本クレア製 CE-2 (マウス・ラット用) で、1個約3gの円筒形ブロックをなし、水分含量は約9%である。これは穀粉、魚粉などを主体とし、水中で徐々に腐敗して、濃厚に投入した場合には4、5日後には悪臭を放ち、グッピーにも強い毒性を示す汚水を作る。この飼料はマウスに対する完全食

1) この研究は文部省科学研究費 (胎生メダカ班) 補助により行なわれた。

としての栄養価が高く、製品が安定して実験の再現性がよいという観点からこのモデル実験の主材料に採用した。

実験に用いた水槽は主として30×20×20cm のガラス水槽で、室温26°C に調節したバイオトロン中におき、同じ室内のタンクにくみおいた水を10l 加えた。水槽は蛍光灯をほぼ900 lux の明るさの位置におき1日14時間照明した。

水中の溶存酸素量 DO はセントラル科学社製の DO メーターを用い、水面下10cm の位置で測定した。pH は日立・堀場 F-5型 pH メーターを使用、硫化水素の定量は Dupasquier-Fresniers 滴定法と、北川式溶存硫化水素検知管を用い、アンモニア体窒素は直接 Nessler 法によった。

実験成績

I. グッピーの生存と溶存酸素の関係

1. 実験 A-1 (表1・図1参照)

目的：一定の水量に対し腐敗性有機物を投入したさい、通気の有無、水草および微生物集団の有無、魚の有無で DO などの水質がどう変るか、また魚の生存と DO の関係はどうかを調べる目的で比較実験をおこなった。

方法：水10l 砂1kg 入り水槽を7個ほぼ同じ条件で並べ、A, B, C, D, E の5個には1971年1月12日に固形飼料を粉末として5g ずつ加え、F, G には飼料を入れず清水のみの対象とし、D, E, G にはグッピー稚魚200尾ずつ(体重100尾あたり1.22g)を放ち、B, C, D, E には微生物叢を附着させたままのアオミドロを湿量で110g ずつ加え、D, E は毎分約150ml の空気をエアポンプとストーンで泡状に送り、他はすべて曝気をせず静置した。室温は26±1°C、湿度は60%±5%に調節した環境で、水温は常にほぼ23°C を示した。実験開始後の操作と所見は次の通りであった。

成績：1) 第1週の成績。1月22日の実験開始時の各水槽の DO は8.0~8.8ppm とほぼ飽和を示し、水を張っただけの水槽Fは実験期間中5.2~7.6の高い DO 値を保った。また水と魚だけのGでも初めの1週間の DO は5.8~7.8を示し、Fと顕著な差はなく、魚の存在による DO 消費はおそらくその攪拌作用による酸素溶解促進と相殺されて、対象の水とほぼ同じ高い値を示した。しかし5g の腐敗源を入れ、曝気をしなかった A, B, C では24時間後にはこの測定装置では検出できないゼロ値を示し、1週間ほぼその状態がつづいた。ここで注目すべきは、Cの魚はこのような無酸素状態でも1週間を通じて1尾の死亡もなく、おおむね水面で鼻上げ呼吸を

表1 実験 A-1 の各水槽の条件と DO の推移

水槽番号	A	B	C	D	E	F	G
水	10l	10l	10l	10l	10l	10l	10l
グッピー	—	—	200	—	200	—	200
アオミドロ	—	+	+	+	+	—	—
曝気	—	—	(+)	+	+	—	—
飼料(第1日)	5g	5g	5g	5g	5g	—	—
DO	第0日(開始前)	8.8	8.2	8.0	8.8	8.8	8.6
	(2時間後)	8.5	7.5	5.8	8.2	8.5	8.0
	1日後	0.0	0.2	0.2	6.5	8.2	8.7
	2 "	0.0	0.0	0.0	7.8	7.7	5.6
	3 "	0.0	0.0	0.1	8.2	8.0	5.2
	4 "	0.0	0.0	0.2	7.6	8.0	5.7
	5 "	0.1	0.2	0.4	8.6	8.4	6.4
	6 "	0.1	0.1	0.8	8.3	7.8	6.4
飼料(6日後)	5g	5g	5g	5g	5g	—	5g
DO	7日後	0.0	0.0	0.0	6.2	6.4	7.4
	8	0.0	0.0	0.0*	6.4	6.8	7.6
	9	0.0	0.0	6.8	6.8	6.9	7.6
	10	0.0	0.0	7.0	6.8	6.6	7.6
	11	0.0	0.0	7.4	8.2	7.6	7.5
	12	0.0	0.0	8.3	8.2	7.8	6.8
	13	0.0	0.0	8.2	8.0	7.9	6.8
	14	0.0	0.0	7.8	7.9	7.6	7.6
	15	0.0	0.0	7.9	7.8	7.8	7.6
	15	0.0	0.0	7.9	7.8	7.8	7.6

* グッピー 200 匹全部死亡、第8日より曝気開始

おこない、時々水底にもぐって飼料およびその腐敗物を食べ、きわめて健全に发育していたことである。表1に示したように水底の腐敗物が減少するにつれ、DO 値が回復するきざしも現れてきた。

2) 第2週の成績。実験開始6日後に各水槽(Fを除く)に5g の飼料粉末を追加供給した。これによりGには5g, A~E には計10g の飼料が加わったことになる。その結果第8日ころより A, B, C については水の腐敗が著るしくなり、Cのグッピーは8日後に全滅した。しかし、曝気をつづけている D, E の水は DO が相変わらず高く、グッピーも健全であった。また、新たに飼料を加えたGにおいては、DO は翌日には0目盛まで下り、その状態が5日間つづいたが、グッピーは健在で、腐敗物が食われて減少するにつれて第12日から次第に DO が上昇してくるようになった。

グッピーが全滅し、DO がゼロとなったCの水に第9日の14時から毎分500ml の曝気をおこなって、2-5分ごと後には1時間ごとに DO の測定をした。水中の DO

図 1 実験 A-1 の成績概要, 経過日数と溶存酸素量

は5分後には0.2ppm と感知されるようになり, 以後ほぼ直線的に上昇し, 40分後には4.8ppm となったが, その後の1時間はほぼ5.0ppm にとどまった. ところがそのあと, 通気開始の120分後から再び減少をはじめ, 5時間後には0.3ppm にまで下がったが, そのあと再び徐々に上昇して翌朝9時に測定したときは6.8ppm となり, その後は高い DO 値を保った(この反転現象については後にくわしい実験をおこなった). また, 曝気後の水に改めてグッピー稚魚200尾を放したが, それらはすべて健全に生存した.

以上のことから, グッピーは水10L に対して5g の飼料混入の状態では, DO が検知できなくなっても生存し, しかも腐敗物を消化して DO を回復する能力を示すこと, しかしその量が10g になると毒性が現れて死滅すること, 曝気によりこの毒物は容易に除去されることなどが示された.

2. 実験 A-2 (図2 参照)

目的: 実験 A-1で水10L に対し飼料粉末5g を投入した場合, DO はほとんど検知できなくなるにもかかわらずグッピーは生存し, しかもグッピーによる腐敗物処理により DO が回復することがみられたので, それを追認する目的でこの実験をおこなった.

方法: 水10L 入り水槽 A, B 2個を用意し, 共に曝気はせず, Aにはグッピー稚魚200尾(体重合計2.22g)を放ち, DO を毎日1回, 6日間測定した. 6日目に A,

図 2 実験 A-2 における DO の変化

水槽番号	水	飼料	魚	通気
A	10L	5g	あり	なし
B	10L	5g	なし	なし

B 両水槽に飼料粉末5g ずつを投入し, さらに20日間 DO を測定した. 水温はほぼ23°C であった.

結果: 水槽に水を張った直後は DO はほぼ飽和に近い8.8と8.5ppm を示し, 室内に放置している間, A, Bとも約6 ppm に保たれていたが, 飼料が投入された翌日から DO はゼロを示し, 魚のいない方はその後24日間ゼロの状態がつづき, 水は黒灰色に濁り悪臭を放つにいたった. 魚のいるAの方は, 飼料投入後5日間はゼロ:

図3 実験B-1における飼料投入後および曝気開始後の溶存酸素量の変化
A, 飼料投入後のDO変化; B, 曝気開始後のDOの変化

の状態がつづいたが、5日後に0.3ppm、6日後に1.2ppm、7日後に1.5ppm、11日後に1.8ppm、13日後に2.1ppm、15日後に2.5ppm、17日後に3.2ppmと次第に上昇してきた。実験開始後25日（飼料供給後20日）に192尾生存（死亡率4%）体重は合計で2.22gから3.84gに増加し、1日当りの生長率は3.6%であった。

これにより、腐敗物が蓄積して溶存酸素が検出できなくなった水にグッピーを放すと、曝気をしないでも溶存酸素が回復することが示された。

II. 腐敗物量と曝気後のDOの経過

3. 実験B-1（図3）

目的：さきの実験A-1で、腐敗物が大量に投入され、溶存酸素ゼロの状態となった水に通気をおこなったとき、間もなく水中のDOが一たん増加するが、その後通気をつづけているうち再びDOが減少し、そのあとで再度DOが増加して今度は安定したDO多量の水がえられるという“反転現象”が経験された。それがどのような状況でおこるかを見るためこの実験をおこなった。

方法：水10ℓ入り水槽P、Q、2個を用意し、共にヒーターにサーモスタットを連結して水温を30°Cに調節した。水温をあげたのは反応速度を早める目的である。Pには1971年1月22日と26日に10gずつ、Qには1月22

日に10gの飼料粉末を加え、2月3日まで放置し、2月3日早朝よりPには毎分100ml、Qには毎分500mlの気泡を送りこんだ。このさいのDOの変化を記録した。

成績：1) 飼料10gを投入後30分おきにP、Qの水のDOを測定したところ、共にDO量は急速に減少し、5時間半後にDOゼロに達した。Pにはその後さらに10gを加え、共に12日間静置した。この間毎日1回DO値を測定したが、いずれもゼロであった。

2) 12日後の2月3日、6時30分よりPには毎分100ml、Qにはその5倍量の気泡を送って曝気開始、その後2時間半は15分ごと、あと30分ごとにDOを測定した成績を図3に示す。腐敗物の量が半分で曝気量が5倍のQではほぼ直線的にDOが増加し、4時間半後には飽和に近い7.2ppmに達し、その後わずかに減少して5.9ppmになったが、9時間後は7.2ppmに安定した。PではDOの増加率がゆるやかで、2時間半後に2.3ppmに達したが、その後反転現象が現れてDOは減少しはじめ、3時間半、4時間後には0.1ppmと最低になり、そのあと急速に上昇して9時間後には5.1、10時間後には5.5ppmとなり、その後はひきつづいて6ppm台の濃度を保った。

4. 実験B-2（表2・図4参照）

目的：B-1の実験成績から、さらに曝気量と腐敗物量

表 2 実験 B-2 の各水槽の条件と DO 経時変化の型

	A	B	C	D	E	F	G	H
飼料供給量 (g)	20	20	20	20	5	10	20	40
曝気量 (ml/分)	60	300	900	0	300	300	300	300
DO 変化の型	(+-)	(++)	(+)	(-)	(+)	(++)	(++)	(+-)

図 4 実験 B-2 における曝気後の経過時間にもなる溶存酸素量 DO の変化

送気量: ○—○ A, 60ml/min; ●—● B, 300ml/min; C, 900ml/min.

飼料投入量: ○---○ E, 5g; ▲—▲ F, 10g; ●—● G, 20g; ×····× H, 40g.

に応じた DO の変化を経時的に追ひ、どのような条件でこの反転現象が現れるかを明らかにしようと考えた。

方法: 10l 入り水槽 8 個を 2 群に分け A, B, C, D は腐敗物量を固形飼料 20g と均一に投入し、曝気量を A は毎分 60ml, B は毎分 300ml, C は毎分 900ml, D は曝気なしとした。第 2 群の水槽は曝気量は毎分 300ml と同一にし、腐敗物量を固形飼料で E は 5g, F は 10g, G は 20g, H は 40g に変えた。固形飼料投入の 27 時間後から曝気を開始した。実験は室温 26°C, 湿度 60% のバイオトロン内でおこない、水温は 23°C であった。DO は曝気開始前と、その直後から 20 時間は 30 分おき、あとは約 3 時間おきに 130 時間後まで測定した。

成績: 曝気開始後の DO の変化は図 4 に示すようにおおむね 3 型に分類される経過をとることが分かった。

1) 腐敗物量が少なく、曝気量が多い場合には、DO は

十の値を示しつづける(十型)、この場合、数時間ないし十数時間は 3~5 ppm と飽和には達せず、一時はやや低くなって浅い谷が形成されることもある。C と E がこれに相当する。2) 腐敗物量に比し曝気量が中等度の場合にはいわゆる反転現象が現われ、DO は一たん十となったあと、急激に減少して再びゼロとなり、ある時間たってまた十となって飽和に達する(+-+型)。B と F がこれに相当する。3) 腐敗物量が多く、曝気量が少ないと、一たん十となった DO は、十数時間後にゼロになり、少なくとも数日間は再び十とならない(+型)。A と H がこれに相当する。この場合、さらに長い日数をかけて曝気をつづければ、ついには十となるであろう。このような反転現象は、腐敗物量が曝気量に比べて多い場合、曝気開始後には水中に酸素がとけて DO は十となるが、これにより好気性菌が繁殖し、それが水中にとけていく酸素を急速に消費して水中の還元物質を酸化し、

表 3 実験 C-2 における経過時間と水質および魚への毒性の関係
(×印は実験を行なわなかったことを示す)

経過時間	使用水槽	水質検査成績					グッピー死亡率 (%)		死亡魚出現の経過時間	
		DO (ppm)	pH	スカム形成	H ₂ S	NH ₃	24時間後	最終成績	飼料投入より	放魚後
直前	B	7.6	7.21	—	—	—	0	0	∞	∞
3時間	M	7.0	7.35	—	—	—	×	×	×	×
6 "	M	5.9	7.27	—	—	—	0	0	∞	∞
12 "	D	5.2	7.11	—	—	—	0	100	6日	5.5日
20 "	A	1.8	6.87	—	—	—	×	×	×	×
24 "	H	0	6.71	+	—	—	0	100	5.5日	4.5日
2日	L	0	6.27	+	—	—	25	75	3~4日	0~1日
3日	K	0	5.90	++	+	—	25	100	4~6日	0~2日
4日	J	0	5.57	++	+	+	50	65	5~6日	0~1日
5日	J'	0	5.48	++	++	+	×	×	×	×
6日	E	0	5.26	++	++	+	60	60	6日	1日以内
8日	F	0	6.51	++	+++	+	100	100	8日	1日以内
11日	F	0	7.10	+	+	+	70	70	11日	1日以内
14日	C	0	7.42	—	+	+	0	0	∞	∞

このため曝気をつづけていても DO は低下する。その後、有機物と細菌の増減、酸素の供給いかんにより、再び DO が増加すると解釈される。

III. 腐敗した水のグッピーに対する毒性の検討

実験 A-1 にも示したように、たとえば水10L 当り固形飼料5g (0.05%) を加えた水では DO はほとんど検出できなくなってもグッピーは死なないが、10g (0.1%) を加えると毒性が現れてグッピーは死ぬことが示された。そこで、このような毒性はどのような条件で現れるか、その本体はなにかを明らかにするために次の実験をおこなった。なお、毒性を示す腐敗水に曝気をおこなうとすぐ毒性が消失するので、それはきわめて揮発しやすいか、酸化されやすい物質であろうと考え、硫化水素とアンモニアにまず疑念をかけることとした。

5. 実験 C-1

方法：水10L 入り水槽9個をならべ、すべてに固形飼料10g を加えて静置し、別々の水槽に時間をかけて生後約2週間のグッピーの稚魚を20尾ずつ放して24時間以内の死亡率をしらべ、これと平行して水の DO, pH, 硫化水素量をしらべた。

成績：DO は飼料投入前9.1ppm あったものが、6時間後には6.0ppm, 15時間後には2.6ppm, 24時間後から18日後までは0 ppm (検出できず) を保ったが、20日後には1.8ppm, 24日後には2.2ppm と、腐敗の完了後に回復のきざしがみられた。pH は原水で7.1が、6時間後に7.0, 24時間後に6.3, 3日後に5.8と最低となり、10日後は6.9, 14日後は7.1と中性にもどった。検知管に

よる水中の硫化水素の検出は4日後に中陽性 (1~2 ppm) を示し、6日後は2.1ppm 以上の強陽性、18日後には1 ppm 以下の弱陽性にもどった。

魚を水槽に放したあとの24時間以内の死亡率は原水、6時間後、24時間後では0であったが、48時間後には弱い毒性が現れて死亡率25% (20尾中5尾死亡)、72時間後に放したものは75%、3日後から11日後までは100%死亡、しかし15日後には80%が生存するようになった。

すなわち、DO は数時間でほぼゼロになるが、魚に対する毒性は水が腐敗しはじめてから3日後にはじまり、約10日間つづき、この間は pH が酸性で硫化水素が強陽性を示していた。

6. 実験 C-2 (表3参照)

方法：実験 C-1 とほぼ同じ計画で設定したが、DO, pH, 硫化水素、アンモニアの測定を細かくおこない、かつ放したグッピー稚魚をそのまま放置して水の毒性出現時点を観察した。

成績：表3に示すように、DO は飼料投入後徐々に下り、20時間で1.8ppm, 24時間以後はこの装置で検知不能となった。pH は20時間ごろから酸性に傾きはじめ、6日後に5.26と最低値を示し、その後アンモニアの増加にともなって中性に近づき、14日後には7.42と弱アルカリ性を示すようになった。水面のスカム形成は24時間ころから認められて次第に厚くなったが、11日後には減少し、14日後には消失した。硫化水素は3日後から検知管で検出され、3日、4日は+ (1 ppm 以下)、5日、6日が++ (1~2 ppm)、8日後は+++ (2 ppm 以上) を示

し、そのあとは+にもどった。アンモニアの定性試験(ネスラー法)では硫化水素より1日おくらせて4日後から陽性を示した。

これらの水槽のいずれかに、時間をかけてグッピー稚魚20尾を放し、その24時間後の死亡率と、これをさらに14日後まで放置しての最終死亡率、および死亡魚が現れるまでの経過時間をしらべた。飼料投入の直前と、6時間後に魚を放した水槽では、魚が腐敗物や微生物を食べていくためか毒物が致死量に達せず、全部生存したが、12時間後、24時間後に魚を放した水槽では、その24時間以内には死亡したものはないが、4～6日後になって毒物が蓄積し全部死亡した。放置した水の毒性は8日後が最高で、放した魚は24時間以内に全部死亡したが、14日後の水槽では全部生存し、腐敗物を投入してから2週間たつと毒性が再びなくなることが示された。

これらの水槽の微生物相を時間的に追って調べたところ、Zooglea、水中の浮遊・遊泳細菌類、枯草菌を主体とした水面のスカムなど、細菌類の圧倒的な増殖が早くからはじまり、次いで48時間後あたりから細菌を捕食する繊毛虫類、とくにゾウリムシ *Paramecium*, *Colpidium* の増殖が著明となり、96時間目以後は *Amoeba*, *Arcella* などの根足虫類、*Euglena* など鞭毛虫類、*Rotaria* など輪虫類も多く現れてきた。さらにグッピーに対する毒性が消失した14日後の水には以上のほか *Dactylococcopsis* (藍藻類)、*Dinobryon* (鞭毛虫類) も現れて、時間の経過と共に生物相の種類がふえてくる傾向がみられた。

7. 実験 C-3 (図5参照)

方法：前項の C-1, C-2 とほぼ同じ方式で同条件の水槽をならべ、水10l に対し10g の固形飼料を加え、DO, pH, 魚に対する毒性(24時間後の判定)も同様におこなったほか、アンモニア態窒素量と硫化水素量をそれぞれネスラー比色法、ヨード消費量法で時間的に定量検査をおこなった。

成績：各水槽の DO, pH, 魚に対する毒性の時間的経過は前の実験 C-1, C-2 とほぼ同じ傾向を示した。すなわち、DO は1日後にはゼロとなるが、魚はこの時点で DO がゼロとなっても死なない。3日後の水では24時間後に20尾中5尾死亡(死亡率25%)、4日後から12日後まではきわめて短時間(おおむね1時間以内)に全部死亡したが、14日後の水では死亡率50%、16日後の水では20尾が全部生存した。

水中の H_2S 量は4日後あたりから急激に上昇しはじめ、pH は酸性に傾き、6日後から12日後までは5ppm をこすようになる。しかし、これを追って約10倍量のア

図5 実験 C-3 における経過日数と DO, H_2S , NH_3 の量と pH, 魚の死亡率の経過

ンモニアが増量しはじめ8日後から18日後までは30ppm をこえ、最高は12日後の56ppm となり、これにともなう水の pH は中性に近づき、14日後には未だに硫化水素、アンモニアとも相当量が残存するにもかかわらず水の魚に対する毒性は減少し、16日以後の水は魚を殺さなくなった。このころは、硫化水素量に比べてアンモニア量が高いのが注目される。

IV. 硫化水素、アンモニアおよびその混合物の魚に対する毒性

以上の実験から、水に腐敗物(固形飼料)を多量に加えて放置したさい、水中の溶存酸素はすみやかに消費されて24時間以内に DO は検知できなくなるが、その場合にもグッピーはまだ生存できる、しかし、3～4日後に H_2S が増加して1ppm をこえ、pH が酸性に傾いてからあと、その水はグッピーを殺す毒性を示すようになる。さらにこれを追って大量のアンモニアが発生してくるが、その増加に伴ってかえって水の毒性が低下してくるような傾向がみられたので、硫化水素水、アンモニア水、その混合物、および両者の化合物として結晶化されている硫化アンモン ($(\text{NH}_4)_2\text{S}$) のグッピーに対する毒性をしらべる実験をおこなった。

8. 実験 D-1 硫化水素水の毒性試験

方法：塩酸と硫化鉄をキップ装置内で反応させ、これを蒸留水中に溶解させて硫化水素水を作り、Dupasquier-Fresniers 法で濃度を調べた上蒸留水を加えて300ppmの原液を作り、これをさらに4.0, 2.0, 1.0, 0.5ppmになるように希釈し、それぞれの200mlを腰高シャーレに入れ、生後約2週間のグッピー稚魚20尾ずつを放して24時間後の死亡率をしらべた。

成績：H₂S 濃度4.0および2.0ppmの水は全部死亡、1.0ppmでは死亡率60%、0.5ppmおよび対照の蒸留水は全部生存した。pHは蒸留水で6.0、硫化水素水はいずれも5.9を示した。

9. 実験 D-2. アンモニア水の毒性試験

方法：市販のアンモニア水を蒸留水でうすめて、アンモニア態窒素として36ppmから2倍希釈のシリーズをつくり、実験 D-1と同様にその200mlに稚魚20尾ずつを入れ、24時間後の死亡率をしらべた。

成績：NH₃ 濃度36ppm (pH 9.6) および18ppm (pH 9.3) では死亡率100%、9.0ppm (pH 9.0)、4.5ppm (pH 8.7)、および対照の蒸留水 (pH 6.1) では20尾の全部が生存した。

10. 実験 D-3. 硫化水素水とアンモニア水を様々な濃度で混合した場合の毒性試験 I

方法：蒸留水に H₂S を 12 ppm から、8, 6, 5, 4, 3, 2, 1 ppm とおかしたものを、および NH₃ を 22ppm から18, 11, 5, 3 ppm にふくませたものの組合せをつくり、その200mlにグッピー稚魚10尾ずつを放して24時間後の死亡率をしらべた。魚の材料が足りなかったため、一部の容器については実験ができなかった。

成績：さきの実験に示したように、H₂S 単独では2 ppm, NH₃ 単独では18ppmをこえると、魚は全部死亡するが、両者を合わせると(NH₄)₂Sの形となって毒性が減少し、その適量ずつが混合した液ではH₂SなりNH₃なりの単独の溶液では全部死亡するはずの濃度であっても、全部生存したり、あるいは一部に生存がみられたりするという現象が認められた。

11. 実験 D-4. 硫化水素水とアンモニア水を様々な濃度で混合した場合の毒性試験 II (表4参照)

方法：実験 D-3 とほぼ同じ組合せで H₂S 濃度が0から12ppm、の9段階、NH₄OH 濃度が0から22ppmの6段階の混合液を200mlずつ作り、それぞれに生後1～2週のグッピー稚魚10尾ずつを放し、24時間後の死亡率を観察した。

成績：表4に示すように H₂S 単独では2 ppm 以上、NH₄OH 単独では18ppm 以上で全部死亡した。しかし、両者の混合液では、たとえば H₂S 2 ppm の系列では

表4 種々な濃度の硫化水素水とアンモニア水の混合液のグッピー稚魚に対する毒性
(上段は各混合液ごとに10尾を供試したさいの死亡率%, 下段は pH)

H ₂ S 濃度 (ppm)	NH ₄ OH 濃度 (ppm)					
	0	3	5	11	18	22
0	0	0	0	0	100	100
	5.0	7.6	8.3	8.8	8.9	9.2
1	0	0	10	10	100	100
	5.5	6.4	8.1	8.7	8.9	9.0
2	100	100	0	40	50	100
	5.2	6.4	7.6	8.7	8.7	8.9
3	100	70	50	30	80	100
	4.7	6.4	7.2	8.7	8.7	8.8
4	100	100	50	20	70	50
	4.5	5.8	6.6	8.6	8.6	8.7
5	100	100	100	70	100	100
	4.4	5.7	6.4	8.4	8.6	8.7
6	100	100	100	80	100	100
	4.4	5.6	6.3	8.2	8.6	8.6
8	100	100	100	100	90	100
	4.3	5.6	6.1	7.9	8.5	8.6
12	100	100	100	100	100	100
	4.3	5.3	5.9	7.4	8.2	8.5

NH₄OH が5～18ppm, H₂S 4 ppm でも NH₄OH が5～18ppm が加わると生存魚がみられ、このボックス試験で左上から右下への対角線沿いに毒性の低い範囲が存在することが示された。これは H₂S と NH₃ の適量ずつが混合し (NH₄)₂S の形になるといじりくく毒性が弱まることを示すもので、単なる pH の値により毒性が現れるものではないことが分かる。

12. 実験 D-5. 硫化アンモニウム水の毒性

方法：市販の試薬硫化アンモニウム (NH₄)₂S (昭和化学) を脱イオン水にとかし、その250ppmから2倍希釈して、各段階の溶液200mlずつを腰高シャーレにとり、それぞれに10尾ずつのグッピー稚魚を放して24時間後の死亡率をしらべた。

成績：対象の脱イオン水 (pH 6.4) は死亡魚なし、32ppm (pH 8.1)、63ppm (pH 8.5) でも10尾が全部生存したが125ppm (pH 8.9) と250ppm (pH 9.8) では10尾が全部死亡した。すなわち硫化水素とアンモニアの結合した状態では魚に対する毒性はきわめて低いことが示された。

考 察

南米原産の胎生メダカ科の1種グッピーは腐敗性有機物を多量にふくんだ汚水によく繁殖する性質をもち、かつ腐敗物を食べて汚水を浄化するはたらきを示すことが知られており、アジア在来淡水魚たちが生存できない

ような汚水にすみついている例が多く見出されている。私共の研究グループは参考文献に示したように、日本および東南アジアにおけるグッピーの野外棲息状況、その蚊幼虫捕食能、汚水中の腐敗性有機物処理能率などの面について研究を重ねてきたが、この報告はこの魚の水の腐敗に対する耐性について一連の実験をおこなった成績をまとめたものである。

ここに示した一連の実験から、水面が空気に接している限り水中の溶存酸素は検出できないほど低下してもこの魚は死なないが、腐敗により毒物が発生してその量がある濃度をこえるとグッピーが死ぬことが示された。その毒物としては硫化水素がおそらく主体であり、これを追って増加してくるアンモニアもそれ自体は毒性があるが、むしろ硫化水素と結合して毒消しの役を果たしているらしいという興味ある結果がえられた。これら毒物の化学的な解析については現在ガスクロマトグラフィーなどを用いてすすめている。

汚水に発生した毒物は曝気によりすみやかに消失することは実用上も注目すべき現象である。現在魚もすめない都市の堀や川を生きかえらすために曝気は有効な手段であろう。この場合、腐敗物量と曝気量の相対的な関係から、水中の DO の回復にほぼ 3 型のパターンがあることが示されたのも興味深い。とくに中等量の曝気のさい DO 量が波形の反転現象を示すことは予想外であった。

ま と め

実験動物飼育用の固形飼料を腐敗性有機物の一例として水に一定量投入して放置した場合、たとえば水 10L あたり飼料 5g を加え 23°C に保つと、水中の溶存酸素量は十数時間で検出できなくなるが、このような無酸素状態の水でもグッピーは水面にあがって呼吸をしつつ生存し、腐敗物を摂食消化して、やがてその水に溶存酸素が検出できるような状態に水質改善をするはたらきがある。

しかし、水 10L あたり飼料 10g を加えて静置すると、数日後には水がいちじるしく腐敗して悪臭を放つようになり、これに放したグッピーは死んでしまう。この場合、水中の溶存酸素の欠乏がその直接の死因ではなく、有機物の腐敗により発生する毒物による中毒死であろうと考える。飼料投入後 24 時間以内に水中溶存酸素はほぼゼロになるが、この時期の水ではグッピーは死なず、4～5 日たつて pH が下がり硫化水素量が 2 ppm をこえると致命的になる。実験的にも硫化水素を蒸留水にかしたさい、1 ppm で 60%、2 ppm で 100% の死亡率がみられた。

腐敗水には硫化水素の発生を追ってアンモニアも増加

し、水の pH はやがて中性にもどり、水の毒性も減少する。アンモニアも魚に毒性があるが、その致死濃度は 10 ppm あまりで、しかも硫化水素とアンモニアの結合した状態では 60 ppm でも魚は死なない。

腐敗物を多量にふくんでこの魚に毒性が高い水を曝気するときわめて短時間でその毒性が消失する。曝気後の水中溶存酸素量をしらべると、腐敗物量が少なく曝気量が多いと DO は直線的に上昇し数時間で飽和に近いレベルに達するが、曝気量が中等度であると一たん上昇した DO が再び下降し、数時間から十数時間たって改めて上昇するという反転現象がみられる。それは水中の好気性微生物の増加にともなう酸素消費の促進の結果であろう。

参 考 文 献

- 半谷高久・安部喜也編 (1972) : 水質汚濁研究法, 347 pp., 丸善, 東京.
 松江吉行編 (1965) : 水質汚濁調査指針, 468 pp., 恒星社厚生閣, 東京.
 日本工業標準調査会 (1971) : JIS 工場排水試験方法, 169 pp., 日本規格協会, 東京.
 Sasa, M., T. Kurihara, O. Dhamvanji and C. Harinasuta (1965) : Studies on mosquitoes and their natural enemies in Bangkok. Part 3. Observations on a mosquito eating fish "guppy" *Lebistes reticulatus* breeding in polluted waters. *Jap. J. Exp. Med.*, **35**(1) : 51-80.
 佐々学 (1971) : 生物を利用する環境衛生の改善—特に胎生メダカ科淡水魚の利用について—。学術月報, **23**(10) : 601-606.
 佐々学 (1971) : 胎生メダカ類などの環境衛生への利用。バイオテック, **2**(8) : 627-632.
 佐々学 (1972) : 生物を利用する環境衛生の改善—とくに胎生メダカ科淡水魚の利用について—。文部省研究報告集録 (昭 46. 人間生存と自然環境) : 108-116.
 Sasa, M. (1972) : Observation on some American peociliid fish established in polluted waters in Japan and South Asia, with special reference to their use in the control of filaria vectors. *Research in Filariasis and Schistosomiasis*, **2** : 67-85.
 佐々学, 宮本詢子, 二瓶直子, 広瀬吉則 (1973) : 汚水繁殖性淡水魚グッピーなどの腐敗性有機物処理能率に関する基礎研究。文部省研究報告集録 (昭 47 人間生存と自然環境) 173-190.
 佐藤英毅他 (1972) : 徳島市に蚊の天敵として移植したカダヤシに関する観察。衛生動物, **23**(2) : 113-127.
 水利科学研究所編 (1967) : 水質汚濁の調査法, 193 pp. 地人書館, 東京.
 津田松苗 (1964) : 汚水生物学, 258 pp. 北隆館, 東京.

Summary

It has been reported in our previous studies

that a fresh water fish of the family Poeciliidae, the guppy or *Poecilia reticulata* (Peters), has established in a number of areas in Asia after being introduced from South America as a pet fish, and served as an efficient predator of mosquito larvae in sewage waters. The fish was found also to be highly adapted for breeding in polluted waters and effective in cleaning organic matters and microorganisms. In this connection, studies were made on the tolerance of the guppies to the septic pollution of water and for identification of the cause of the toxicity.

When 5 g of the powder of laboratory animal food is added to 10 liters of water and kept at 23°C, the dissolved oxygen in water becomes undetectable within several hours; the guppies, however, released in such water can survive many days apparently by taking oxygen from the water surface. The absence of dissolved oxygen is therefore not the direct cause of the death of the guppies, though it may be fatal to other fish species. When larger amounts of the septic substance is added to water, such as over 10 g of the animal food into 10 liters of water, the water becomes toxic to the guppies after about 4 days, and the toxicity lasts for about a week. However, the guppies exposed to the water before and after such a toxic period stays apparently healthy, though the dissolved oxygen may be undetectable. Interestingly enough, the guppies which survive keep on eating the fouling substances and the microorganisms, and eventually the water recovers its oxygen content after most of the organic matter is consumed by the guppies.

The toxicity of septic waters to the guppies was found to be highly correlated with the concentration of H_2S in water. The water becomes

fatal to the fishes from about the fourth day when the H_2S concentration increases to over 1 ppm, and remains so for about a week until the concentration drops again to below 2 ppm. The pH level during this period is usually below 6, but it gradually changes to near neutral in connection with the increase of NH_3 in the water. The septic water also becomes non-toxic to the fishes after providing aeration for a few hours.

Under experimental conditions, H_2S dissolved in distilled water exhibits toxicity to the fishes at concentrations higher than 1 ppm, while the toxicity of ammonia in water is seen at concentrations above 11 ppm. It was also observed that the toxicity of H_2S and NH_3 is remarkably reduced by mixing the two solutions at adequate ratios. The solution of $(NH_4)_2S$ is safe to the fishes even at 63 ppm, and becomes toxic only at concentrations 125 ppm and higher. It is presumed that the accumulation of H_2S produced by microorganisms under anaerobic condition is the principal cause of the toxicity, and subsequent increase of ammonia in water acts as a neutralizing agent.

It was further observed that the toxicity to the fishes could be easily minimized by providing aeration into the septic waters in connection with the recovery of dissolved oxygen. The D.O. concentration of the septic water rapidly increases after commencement of the aeration, but in most cases the concentration starts to drop after several hours, probably the result of the reproduction of aerobic microorganisms which consume oxygen for oxidizing the fouling substances. The secondary increase of D.O. concentration occurs some time later, after most of the septic substances are saturated with oxygen.