毒物に対する魚の反応に関する研究—II.

酸に対する魚類の反応*

石 尾 真 弥

(1960 年 7 月 1 日受理)

THE REACTIONS OF FISHES TO TOXIC SUBSTANCES—II.
THE REACTIONS OF FISHES TO ACIDS.

Shinya Ishio**

In previous paper (1), the present author was able to introduce only about the structure of a new gradient tank and the principle of formation of toxic gradient in it.

This paper deals with the method of avoidance tests of fishes applying the new tank, in combination with the reactions of Gin-buna, *Carassius auratus* (L.) and bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus* to acid gradients resulted from adding hydrochloric acid to soft water and hard water. Some data of those tests proved the fact that against pH gradient, Gin-buna were able to approach fairly acid water with pH as low as 2.8 when the concentration of carbonic acid was lower than 18 p.p.m., whereas bluegill sunfish could approach only pH 5.8 where the concentration of carbonic acid was 240 p.p.m. Although the pH 2.8 for Gin-buna and the 240 p.p.m. of carbonic acid for bluegill sunfish are presumed to be quickly fatal (4), (9), it is safely to say that those fishes can avoid of fatal concentrations of either hydrogen ion or carbonic acid with a high frequency more than 70 per cent of total avoidance.

前報¹⁾では、新考案の濃度傾斜槽の構造と濃度傾斜の生成機構を述べることにとどまつた。この報告では嫌忌試験の方法と、軟水に塩酸を加えて生成された酸の濃度傾斜に対するギンブナの反応および硬水に塩酸を加えて生成された酸の濃度傾斜に対する bluegill sunfish の反応について述べる。

実験の結果、ギンブナはしばしば pH 2.8 まで到達し得ること、bluegill sunfish は 5.8 より低い pH の水に泳ぎ込まないことが判明した。両種の魚はともに酸に強い魚として知られるが²⁾、このような行動の差異は、水中の炭酸濃度に起因することを明かにした。また嫌忌濃度は必ずしも致死濃度より低くないが、70% 以上の頻度をもつて両種の魚は致死的な水素イオン濃度あるいは炭酸濃度から回避し得る能力のあることを証明した。

嫌忌反応の試験法

魚を傾斜槽に放すと、種類によつて、群を作り水槽内を往復するもの、一定位置にとどまつて殆んど動きを示さないものなど様々である。しかし塩酸のような毒物を、水槽の左端から注入し始めると、魚の分布は次第に右方に片寄つて、遂には右端に追いつめられてしまう。塩酸の注入量、あるいは濃度を適当に加減すると、魚は塩酸のある濃度の点に達して引返すようになる。したがつて塩酸に対する嫌忌濃度を求める方法として、魚が引返す位置の塩酸の濃度を求めれば良いはずである。しかしながら、魚には個体差があるから全部の魚がその濃度の地点に到達するとは限らない。大部分の魚は遙か低濃度から退却する。ある一定時間内に魚が到達し得る最高濃度の位置、すなわち分布の上限を記録することは容易である。しかし、より低濃

* 本研究の要旨は昭和 35 年 4 月、東京における日本水産学会にて発表した。

** 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem. Fac. Agr. Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

度から退却する大部分の魚の位置を記録することは困難である。このために、一定時間毎に水槽内の全供試魚の平均位置を求め、その位置の塩酸濃度から、平均嫌忌濃度を推定した。

全供試魚の平均位置を求めるために、水槽内に等間隔の7箇の区画を仮定した。すなわち、水槽の中央部を0の区画とし、濃度の高くなる方向に向つて +1, +2, および +3, 低くなる方向に -1, -2, および -3 の区画を設けた。また水槽の中央を起点として、高濃度側に0から +100 までの等間隔の10目盛りをつけた。低濃度側には同じく0から -100 までの目盛りをつけた。

この水槽に通常11尾の魚を放し、充分水槽に馴れた後、2分30秒毎に各区画に分布する魚の尾数を記録し、その時間の間に魚が到達し得る毒物の最高濃度の位置を、水槽につけた0から ±100 までの目盛りの読みとりによつて記録した。

魚が水槽内の毒物の濃度を極端に嫌悪すると、全供試魚は -3 の区画に逃げ込み、そこには魚が逃げ得る余地は少しも残されていないので、この場合の魚の平均位置は -100 の値をとるものと規定した。また水槽全体に平均に魚が分散するとき、あるいは水槽中央に集まるときには、その平均位置は0の値をとるようにつぎの計算式で求めた。

$$\text{魚の平均位置} = \frac{100}{N \times 3} \left\{ 3 \times (n_3 - n_{-3}) + 2 \times (n_2 - n_{-2}) + (n_1 - n_{-1}) \right\}$$

ここに N は全供試魚の数である。 n_3, n_{-3} 等はある時間に各区画に存在した魚の数を示す。 n の右裾の数字は区画の番号である。

このようにして時間の経過とともに魚の動きを記録しつつ、ある時間の経過の後に毒物の注入を開始した。注入後適当の時間々隔で、水槽の7乃至8箇所から一齊に採水し、毒物の濃度を定量した。定量法は使用毒物の種類によつて異なるが、定量法そのものが困難な毒物、あるいは水槽中の毒物濃度が極端に低くなり、直接の定量が困難な場合には、魚の行動に影響を与えない程度に、供試毒物に一定割合に塩化ナトリウム、あるいは Alizarin sodium sulfonate のような色素を混じ、塩素イオンの定量、あるいは分光光度計による色素の定量によつて間接的に毒物濃度を求めた。塩酸の場合には pH 値の測定とともに、無機酸度および全酸度の差を求めて炭酸濃度を測定した。人手の足りない時には、pH 値と塩酸に混じた色素の定量値から炭酸濃度を求めた。このようにして各時間の毒物の濃度傾斜が得られるので、それらの測定時間に、ある毒物濃度は水槽のどの位置に存在するか判明する。したがつてこれらの濃度の位置を Fig. 1, 3 および 4 に示したような魚の反応図の、該当する時間の上に印し、各時間にわたつて等濃度の点を結んでいけば、これらの図に見られるような等濃度線が画ける。したがつて時間の経過とともに起る濃度傾斜の変化を知ることができる。

このような方法によつて、ギンブナ *Carassius auratus* (L.) と bluegill sunfish の塩酸に対する反応を試験した。

塩酸に対するギンブナの反応

全長 13~14cm のギンブナ 11 尾を水槽に放し、餌を与えることなく2日間飼ひ馴らした。試験開始前、水槽左端、+100 の位置で水温 14.0°C, pH 7.58, 水槽右端、-100 の位置で 14.4°C, pH 7.63 を示した。pH の測定は硝子電極法によつた。この清水は遊離塩素、その他の疑わしい毒物を含まない。溶存酸素は充分量である。

40 分間の blank test の期間、ギンブナは群を作つて頻繁に水槽内を往復したので、魚の平均位置は Fig. 1 に見られるように大きな振幅をもつた短い波長の波形で示された。殆んど毎回先頭の魚は +100 の位置まで達するので、分布の上限は +100 の位置に示されている。90 分に、0.025 N の塩酸溶液を毎分 26.5 ml. の速度で +100 の位置から注入し始めた。清水の供給量は毎分 3.3 l にした。塩酸の流れが水槽内で定常状態になつた後、180 分から 300 分にわたつて魚の分布の上限 (Fig. 1. 細線) と、分布の平均位置 (Fig. 1. 太線) を記録した。分布の上限は、ほぼ pH 6.5 から 2.9 の間に示されている。分布の平均位

Fig. 1. Reactions of Gin-buna, *Carassius auratus* (L.) to acid gradient resulted from adding hydrochloric acid to soft water.

Bold line shows mean distributions of fish. Thin line represents upper limits of the distributions. Chain lines are iso-pH lines. Small triangles put down on a top line mean the time when sampling were done for determination of pH and carbonic acid.

置は大体 6.25 以上の水中に見られた。塩酸の注入はその儘続けられたが、約 48 時間までには注入量が次第に低下し、2930 分には水槽の左端で pH 6.22, 右端で 6.90 を示した。2960 分に 0.05 N の塩酸溶液の注入を開始した。pH の傾斜は時間の経過とともに峻しさを増し、ギンブナは後退し始めた。しかしながら魚の分布の上限は、180 分から 300 分の間に見られたものと大差なく、pH 6.5 から 2.7 の間に観察された。分布の平均位置は pH 6.25 以上の水中に見られた。

pH 値の測定とともに、炭酸濃度を測定し、その濃度傾斜を Fig. 2 に示した。この実験期間を通して、炭酸濃度は CaCO_3 として 30 p.p.m. を越えなかつた。後述の bluegill sunfish の試験結果と比較するために、炭酸そのものの濃度に換算すると、その濃度は 18 p.p.m. 以下である。炭酸濃度の最高の位置は pH 4.0 と 5.0 の間にあり、その両側で低い pH 値になっている。これは pH 4.5 以下の位置では、塩酸が重炭酸塩をことごとく分解し、生成した炭酸が底部からの気泡送入によつて気化し、気化量は気泡との接触時間の長さに比例するからである。pH 4.5 以上の位置で再び低くなるのは底部から供給される清水の稀釈と気化の両作用による。

この実験は 72 時間継続された。この時間に pH の傾斜は +100 の位置で 5.56, -100 の位置で 6.70 に弱まっていたが、試験期間を通じて、ギンブナに何等の異常も見られなかつた。

塩酸に対する bluegill sunfish の反応

この実験は、著者が Purdue 大学*の衛生工学の研究室で行つたものである。体長 12~14 cm の bluegill sunfish 13 尾を同じ構造の水槽に放し、10 時間水槽に馴らした。100 分間の blank test の期間を通して、

Fig. 2. Gradients of pH and concentration of carbonic acid when hydrochloric acid was added to soft water in the gradient tank. Solid lines are for pH, and dashed lines for carbonic acid. Figures show the order of sampling seen Fig. 1.

* (West Lafayette, Indiana, U. S. A.)

Fig. 3. Reactions of bluegill sunfish to acid gradient resulted from adding hydrochloric acid to hard water.

Bold line shows mean distributions of fish. Thin line represents upper limits of the distributions. Chain lines are iso-pH lines.

Fig. 4. Reactions of bluegill sunfish to carbonic acid resulted from adding hydrochloric acid to hard water.

Bold line and thin line are the same with those illustrated in Fig. 3. Chain lines are iso-concentration lines of carbonic acid.

魚は水槽全体にはほぼ均一に分布した。ギンブナと異なり群を作らなかったため、平均位置は小さな振幅で比較的波長の長い波形で示された。110分に16 p.p.m.の濃度を持つ methyl orange 溶液を +100 の位置から注入した。幾分の変動が魚の分布の上に見られたが、大勢には殆んど影響が及ばなかった。225分に同濃度に methyl orange を含む 0.1N 塩酸溶液を毎分 68 ml の速度で注入し始めた。清水の注入量は毎分 2 l に保った。Purdue 水道水には、冬期のため遊離塩素の注入が行われていなかった。Total hardness は 362 p.p.m. といわれていたが、EDTA 法による実測では丁度 500 p.p.m. を示した。非常に硬い水である。注入塩酸の大部分は水槽中央に進む前に、水中の重炭酸塩によって殆んど中和され、結果として 300 p.p.m. の濃度を越える炭酸が出現した。この炭酸は稀釈と気化によって濃度を低下しつつ水槽右端 -100 の位置に進んだ。

この濃度傾斜の中で bluegill sunfish の示す行動は、Fig. 3 および 4 に示した。pH との関係を見れば bluegill sunfish は pH 6.0 を越えたのが 1 度であり、多くの場合、6.3 乃至 6.7 の pH を持つ水に出遣うと退却していることが判る。魚の平均位置は、pH 6.9 以上の水中に見られた。280 分からは 6.8 の水中に分布を強制された。炭酸濃度との関係を見れば、200 p.p.m. の炭酸濃度を越えて 2 度泳ぎ込んでいるのが判る。多くの場合には 100 乃至 160 p.p.m. の範囲から退却している。魚の平均位置は 80 p.p.m. 以下の炭酸濃度の中に見られた。

考 察

両魚種の酸に対する嫌忌行動の相違を明らかにするために、種々の pH 範囲に入って逃げ出す頻度を百分率に換算して Table 1 に示した。ギンブナの 1 回の回避は、1.45%、bluegill sunfish のそれは 2.7% に相当する。この結果からギンブナは pH 2.8 より低い pH 値には泳ぎ込まないことが明かである。bluegill sunfish の回避頻度を示すのに、Table 1 には 5.0–6.0 の pH 範囲と書いたが、5.8 より低い pH 値の水に

Table 1. Frequency of entry into two different acid gradients observed upon Gin-buna, *Carassius auratus* (L.) and bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*.

pH range	Gin-buna	Bluegill sunfish
lower than 2.8	0	0
2.8 to 3.0	14.5	0
3.0 to 4.0	14.5	0
4.0 to 5.0	14.5	0
5.0 to 6.0	14.5	2.7
6.0 to 6.25	18.8	2.7
6.25 to 6.50	16.0	32.4
6.50 to 6.75	7.2	62.2
higher than 6.75	0	0
Total	100.0%	100.0%

The acid gradient for Gin-buna did not contain carbonic acid higher than 18 p.p.m. as H_2CO_3 . The acid gradient for bluegill sunfish contained carbonic acid at the range of 70 to 300 p.p.m. as H_2CO_3 .

は泳ぎ込んでいない。ギンブナの低 pH からの回避頻度は、各 pH 範囲に対してほぼ同じ値を持つているから、これらの pH 値の変化は、この魚の回避の強い刺激となつていないことが推測される。しかし 2.8 というような低 pH 値になるとこの刺激が急激に増大することが明らかである。bluegill sunfish の場合には、この魚が pH 4.4 の酸性の湖沼に棲息することが知られているから⁶⁾、pH 5.8 の水素イオン濃度が回避の原因となつていとは考えられない。HART⁴⁾の研究によつて bluegill sunfish が自己の呼吸を支えて耐え得る炭酸の最高濃度は 160 p.p.m. と評価されている。著者のこの実験では 5.8 に相当する pH 値の水は、分析によつて炭酸濃度 240 p.p.m. であることが確かめられており、大部分の bluegill sunfish が避けた pH 値 6.3 から 6.7 の間では、160 から 100 p.p.m. であつた。bluegill sunfish はギンブナに比べて遙か高い pH の水を回避したが、その原因は水中の水素イオンによるものではなく、高濃度の炭酸によることは、したがつて明らかである。

酸性水の粘膜凝固作用は、pH 4.5 以上では起り得ないとされているが⁵⁾、それ以下では pH の低下とともに急速に起り得る。ELLIS⁶⁾はギンブナと同種のキンギョ *Carassius auratus* (L.) について、有機、無機 11 種の酸類を用いて致死時間を測定し、pH 3.4 から 4.0 までは数時間内に致死することを明らかにした。また 4.5 から 4.9 までの間では 4 日間の間に致死の起らなかつたことを観察している。このような事実から考察すれば、ギンブナは安全な pH より遙かに低い pH 値を有する水中に泳ぎ込むことが明白である。pH 値で比較すれば数値の差は僅少になるが、安全濃度を pH 4.5 として、水素イオンのモル濃度で比較すれば、ギンブナは安全な水素イオン濃度の約 50 倍の濃度に泳ぎ込むことになる。したがつてギンブナが到達し得る最低 pH 値は決して安全濃度ではない。bluegill sunfish が到達し得る炭酸の最高濃度もまた数日間の中で棲息し得る安全濃度よりも約 150% も高い値である。したがつて魚が到達し得る最高濃度は、水素イオンの場合も炭酸の場合も、明らかに限界致死濃度以上である。pH 2.8 はギンブナが 100% 回避する濃度である。240 p.p.m. の炭酸濃度は bluegill sunfish が 100% 回避する濃度である。文献に知られる水素イオンの限界致死濃度、すなわち pH 4.5 からのギンブナの回避頻度の百分率は 72%、炭酸 160 p.p.m. からの bluegill sunfish のそれは 88% と計算される。したがつて少なくとも 70% 以上の頻度を持つて魚は危険濃度を検知して、水素イオンあるいは炭酸から逃げ出していることが明らかである。

一方、大部分の魚の平均位置における水素イオン濃度を見ると、ギンブナの場合には大体 pH 6.25 以上である。炭酸濃度を bluegill sunfish について見ると 80 p.p.m. 以下である。良好な水質が存在すればもちろん、これらの pH あるいは炭酸濃度を持つ水質から魚が移動する可能性はあるが、この pH あるいは炭酸濃度に対して、ギンブナあるいは bluegill sunfish は先ず著しい嫌忌を示すことなく耐え得るものと推測される。

要 約

新考案の濃度傾斜槽を用い、軟水および硬水に塩酸を加えて生成された酸の濃度傾斜に対するギンブナの反応および bluegill sunfish の反応をそれぞれ試験し、つぎの結果を得た。

- 1) 炭酸濃度 18 p.p.m. 以下の酸性水中で、ギンブナが到達し得た最低 pH 値は 2.8 であつた。
- 2) pH 5.8 以上の酸性水中で bluegill sunfish が到達し得た最高炭酸濃度は 240 p.p.m. であつた。
- 3) ギンブナが到達し得た最低 pH 値は、水素イオンのモル濃度に換算して、限界致死濃度の約 50 倍であつた。
- 4) bluegill sunfish が到達し得た最高炭酸濃度は、限界致死濃度の約 1.5 倍であつた。
- 5) ギンブナは限界致死 pH 値 4.5 を、72% の頻度を以つて回避した。
- 6) bluegill sunfish は致死限界の炭酸濃度 160 p.p.m. を 88% の頻度を以つて回避した。

この研究の達成に當つて、心からなる援助の手を差し延べられた九州大学富山哲夫教授および Purdue 大学 DON E. BLOODGOOD 教授に対し、ここに深甚の謝意を表するものである。

文 献

- 1) 石尾真弥: 本誌, 26, 349~353 (1960).
- 2) KLEIN, L.: Aspects of River Pollution, 186, (1957), New York and London.
- 3) JEWELL, M. E. and BROWN, H.; Trans. Am. Microscopical Soc., 43, No. 2, 77~84 (1924).
TARZWELL, C. M.: Biological Problems in Water Pollution, U.S. Dept. of Health, Education
of Welfare, 246~272 (1957).
- 4) HART, J. S.: Proc. Florida Acad. Sci. 7, 221~246 (1944).
- 5) DOUDOROFF, P. and KATZ, M.: Sewage and Ind. Wastes, 22, 1432~1458 (1950).
- 6) ELLIS, M. M.: Bull. No. 22, U. S. Bureau of Fisheries Bull, Bur. Fisheries, 48, 365~437
(1937).