

p C P によるへい死魚の判別について

平野哲美・宮崎征男・松原孝之

最近、魚体中の P C P 確認法に関する研究⁽¹⁾⁽²⁾が行なわれ、これが死因判定に利用されるようになつた。当場においても、これについて 2, 3 の検討を行なつたので結果を報告する。

1 実験および分析方法

供試魚； 灌漑用水路で採捕した稚ブナ（体重 2.8 ~ 7.3 g, 体長 2.8 ~ 7.1 cm）を大型水槽で 2 ~ 5 日間蓄養した後、元気な個体を選んで実験に用いた。実験中は通気せず、水温は 18 ~ 24 °C であつた。

供試 P C P ; 九州大学富山教授から分譲をうけた純度 99.98% のもので、この力値を 1 として標準原液を調製した。

供試液； 水道水で各濃度に調製した。濃度は標準原液から計算によつて求めた。

飼育容器； 直径 30 cm, 深さ 15 cm の円型ガラス水槽を用いた。

魚体中 P C P の定量法； 魚体中の P C P の検出法には津田氏らの報告があるが、当場では、つぎのような方法を試みた。

まず、供試液から取り上げた試料（生魚は機械的に致死させた後）を清水で 30 分間水洗し、ホモジナイザーでかゆ状にして、0.5% 水酸化ナトリウム溶液 150 ml を加え、30 分間温浸する。
冷却後、遠心沈殿器で不溶解物質を除く。この分離液に塩酸を加え十分に酸性となし水蒸気蒸留を行なう。留液は約 30 分間で 300 ml 留取する。以下の操作は、水からの検出法と同様に 4-アミノアンチピリン法（富山氏の改良法）⁽³⁾により発色させ、吸光度を 570 m μ の波長で測定し、別に作製した検量線から P C P 量を求めた。検量線は P C P を含まない健全なフナを用いて、前記同様に分離液を作り、標準原液を加え、蒸留して作製した。

2 P C P へい死魚体内の P C P

濃度 0.5, 1 ppm の供試液各 3 l で、フナを 3 尾ずつ飼育した。1 ppm 区では 1 時間 40 分から 3 時間 40 分、0.5 ppm 区では 5 時間 30 分から 7 時間 20 分までの間に全数へい死した。試魚は

へい死のつど取り上げ分析に供した。結果を第1表に示す。致死体内濃度は300～436 $\mu\text{g}/10\text{g}$ であつた。いくらかの個体差はあるが致死体内濃度はほぼ一定であつた。

続いて、P C Pで前記同様にして、フナをへい死させ、魚体を鰓、内臓、肉の3部に分け各部のP C Pを定量した。結果を第2表に示す。各部における試料1gあたりのP C P量は内臓がもつとも多く66～137 μg で、鰓47～100 μg 、肉部では20～34 μg であつた。

つぎに、濃度1ppm、3時間でへい死したフナ2尾を水道水で24、48時間洗浄した後分析した。結果は第3表に示すように、24時間洗浄では、P C Pの減少はほとんどみられなかつたが、48時間後にはいくぶん減少している。

以上の結果から、P C Pによるへい死魚のP C P濃度はほぼ一定であり、各部におけるP C P濃度は内臓に高く、48時間洗浄してもP C Pの減少量は少ないことが判明した。

第1表 P C Pへい死魚体内のP C P

濃度	致死時間	体長	体重	$\mu\text{g}/\text{魚体}10\text{g}$
対照	生存	6.0 cm	6.1 g	0
0.5 ppm	5.30	5.0	3.7	399
	6.20	5.2	4.5	436
	7.20	5.0	4.2	398
1 ppm	1.40	5.7	4.8	302
	2.50	4.3	3.2	300
	3.40	5.6	5.2	402

第2表 へい死魚体各部のP C P

濃度	致死時間	鰓		内臓		肉		$\mu\text{g}/\text{魚体}10\text{g}$
		♂	μg	♂	μg	♂	μg	
0.5 ppm	3.20	15	47	25	66	60	20	216
	5.00	21	66	44	111	54	24	322
	7.00	33	93	71	136	129	34	400
1 ppm	3.00	22	56	33	74	67	30	306
	3.30	25	100	41	137	48	22	317
	4.00	28	69	53	86	113	33	353

第3表 へい死魚洗浄による体内P C Pの減少

部 称	24時間洗浄			48時間洗浄		
	♂	μg	$\mu\text{g}/\text{魚体}10\text{g}$	♂	μg	$\mu\text{g}/\text{魚体}10\text{g}$
鰓	18	61	417	10	50	177
内臓	72	180		16	73	
肉	64	31		39	19	

3 P C P 溶液に浸漬した死魚体内の P C P

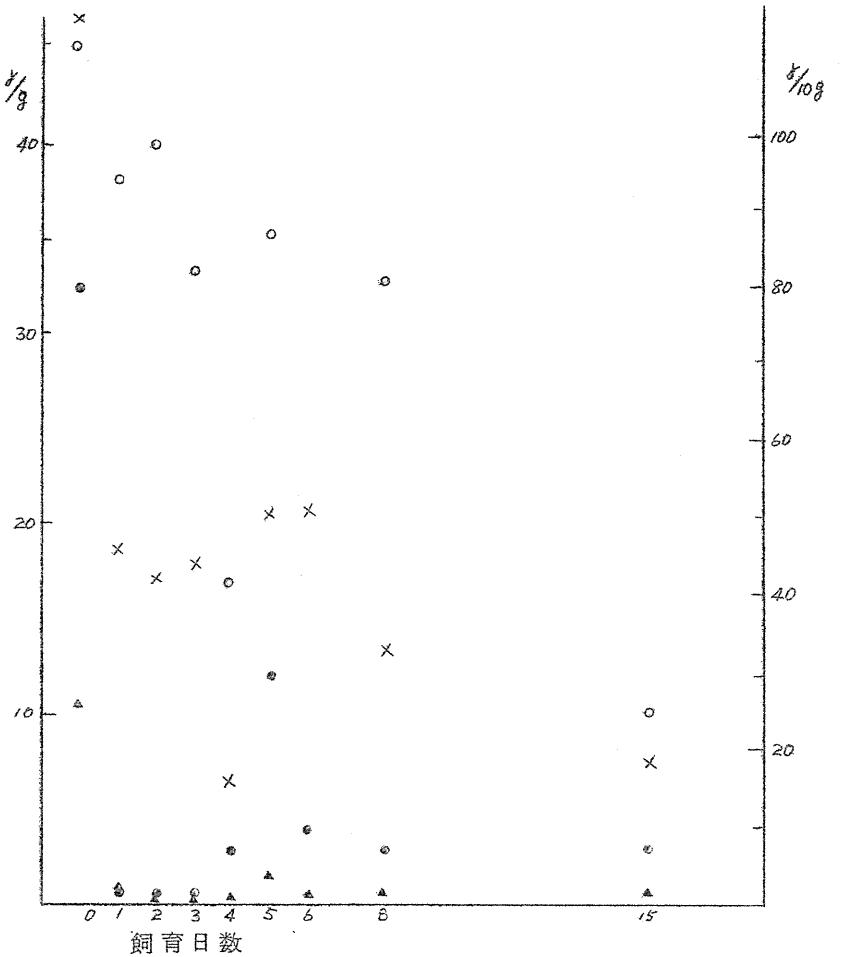
健全なフナを機械的に致死させ、0.5, 1 ppm の供試液各 5 l に 3 尾あて浸漬した。供試液は 24 時間ごとに換えた。供試魚は 24 時間ごとに 1 尾ずつ取り上げ分析した。72 時間後の死魚は腐敗臭強く、内臓は液状に分解していた。分析結果を第 4 表に示す。浸漬時間の経過に伴い P C P の体内への浸透量は漸次増加するが、72 時間浸漬しても、P C P へい死魚の 48 時間水洗の場合と比較するとその量は半分に過ぎず、魚体内の分布でも P C P に直接触れる肉部に多く、内臓までは浸透しない。すなわち、P C P によるへい死魚とは P C P の体内侵入経路を異にするためであろう。

第 4 表 浸漬死魚体内の P C P

浸漬時間	部称	0.5 ppm			1 ppm			対照
		♂	♀/♂	♀/魚体 10g	♂	♀/♂	♀/魚体 10g	
24	鰓	2	6	38	1	2	29	
	内臓	1	2		0	0		
	肉	11	5		11	4		
48	鰓	1	5	47	1	5	57	小川に浸漬 0 ガラス水槽に 浸漬 0
	内臓	2	7		1	4		
	肉	17	6		18	8		
72	鰓	2	6	55	3	10	81	
	内臓	1	4		1	2		
	肉	19	7		29	11		

4 回復魚体内の P C P

フナを濃度 1 ppm の供試液で 1 時間飼育し、狂奔状態に達した 8 尾を清水 8 l 中に移し、24 時間ごとに換水しながら飼育して 1~2 日ごとに 1 尾ずつ取り上げ分析し、時間の経過に伴う体内 P C P の減少を 15 日間にわたって調べた。一時、高濃度の P C P に接触して狂奔状態にあっても清水に移せば、2~3 時間後には正常な遊泳をするようになり、試験中 1 尾もへい死するものはなかった。結果は第 1 図のとおりである。狂奔状態にある魚体内の P C P は 117 ± 10% であったのが、24 時間後に取り上げた試魚では 46 ± 10% と急激に減少していた。これは魚体の大部分を占める肉部や鰓の P C P が減少したためである。一方、内臓 P C P の減少は非常に緩慢で 15 日間を経過してもかなり残存していた。すなわち、回復魚体内の P C P は肉部や鰓では急激に減少していくが、内臓では非常に緩慢である。



第1図 回復魚体内のPCP(%)

●-----鱗 ○-----内臓 ▲-----肉 ×-----魚体平均(%)

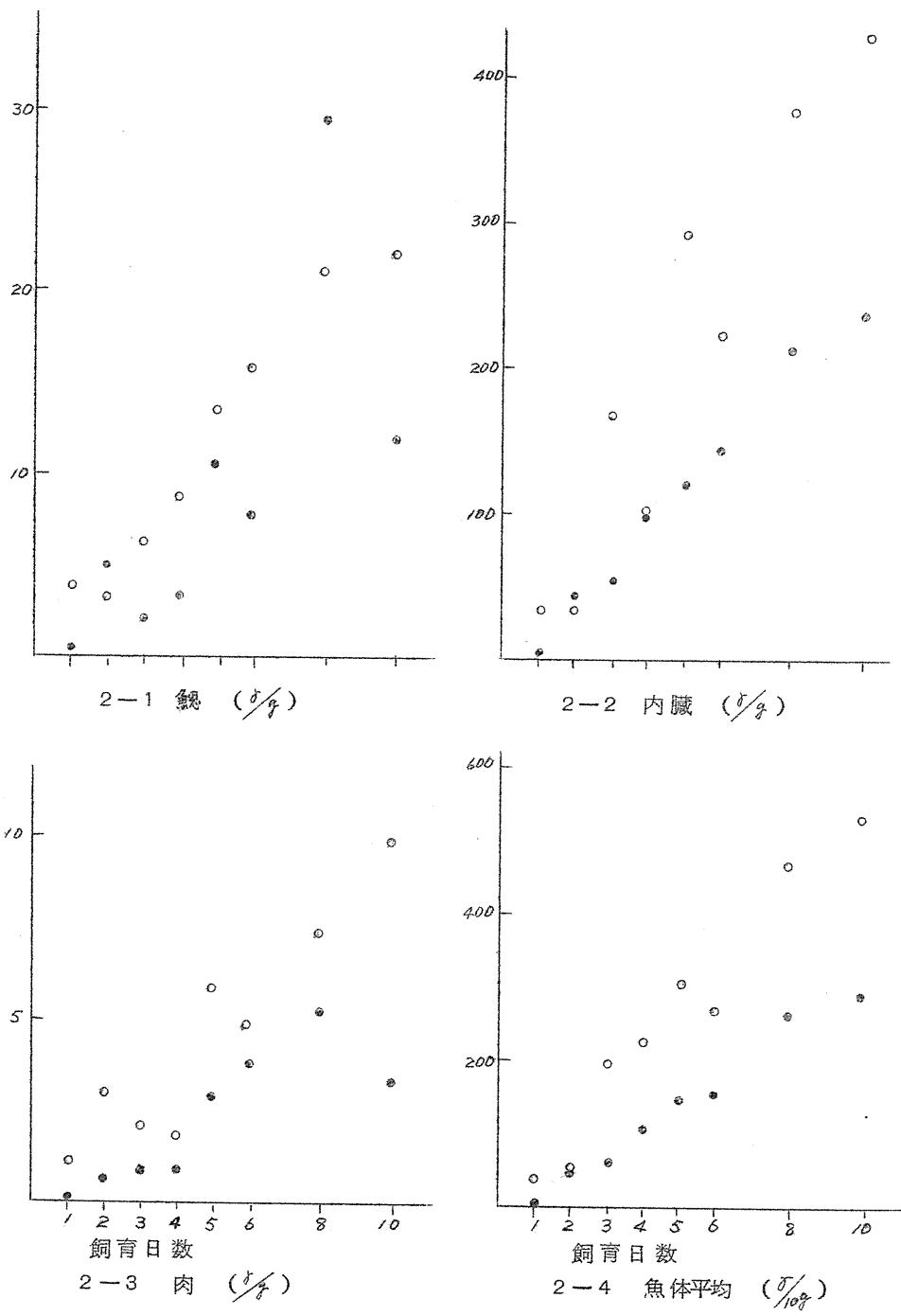
5 致死濃度以下で飼育した魚体内のPCP

濃度0.05, 0.1 ppmの供試液各3lにフナを3尾ずつ入れ、24時間ごとに新しい供試液と取り換え7日間継続飼育した。その間、へい死や異常遊泳するような個体はみられなかつた。7日後に取り上げ、分析した結果を第5表に示す。0.1 ppm区ではPCPへい死魚の致死体内濃度を上まわる量を蓄積していた。

つぎに、前試験と同濃度に調製した供試液各

第5表 致死濃度以下で飼育した魚体内PCP

濃度	尾数	体長	体重	/魚体10g
				cm g
0.05 ppm	3	5.2	3.8	211
		5.5	4.0	304
		4.9	3.5	266
0.1 ppm	3	5.0	3.1	311
		5.2	4.0	563
		4.5	2.8	582



第2図 魚体内各部の PGP 濃度

● 0.05 ppm 区

○ 0.1 ppm 区

8 lにそれぞれフナ9尾を入れ、24時間ごとに供試液を換えて飼育した。1~2日ごとに1尾ずつを取り上げ鰓、内臓、肉に分けて分析に供した。なお、最後の1尾は同様供試液を換えて30日間継続飼育し観察したが全然異常はみられなかつた。分析結果を第2図に示す。致死濃度以下の溶液であつても長時間接觸すれば、各部ともPCP濃度は漸次高くなつており、特に内臓の蓄積は著しく0.1ppm区では450 ‰にも達している。また濃度別による蓄積量は各部とも0.1ppm区に多かつた。

第6表 回収PCPによる毒性試験

以上のように、体内には多量のPCPを蓄積していくながら魚には異常がみられなかつたので、濃度0.1ppmの供試液で20日間フナを飼育し、分析

濃度	液量 l	尾数	体重 g	致死時間	PCP-γ	/魚体10g
1 ppm	2	2	7.0	7.00	373	533
0.5 ppm	1	1	5.4	へい死せず 3日目とりあげ	270	500

同様の操作で魚体内のPCPを留液に回収した。

その留液で1ppm(2l), 0.5ppm(1l)の供試液を作り(濃度は原液の分析値から計算で求めた)フナを飼育して魚体からの回収PCPの毒性試験を行なつた。結果を第6表に示す。1ppm区では2尾ともへい死したが、致死時間が7時間と長く要しており、0.5ppm区では異常はみられなかつた。

このように、低濃度で長期間飼育した魚体内のPCPは4-アミノアンチピリン法でPCP同様の反応を示すが、毒性は減退しているので、フナの解毒作用で生成された物質にPCPと同様の呈色反応を行うものがあるのだろう。

6 PCPへい死貝肉中のPCP

有明海産のアサリ、サルボウを用い、供試液は自浄海水(比重は1.020前後)で、各濃度区とも3l調製し飼育した。供試液は24時間ごとに換えた。分析操作は、むき身にして30分間清水で洗浄し、以下の操作は淡水魚同様に行なつた。検量線はサルボウとアサリは別別に作製した。試験開始後48時間内のへい死貝はそのつど取り上げ、一時冷蔵庫に保存した後分析に供した。それ以後の死貝は24時間ごとに取り上げ順次分析した。貝類の体内PCPの分析結果を第7表に示す。PCP反応は死貝、生貝いずれも陽性であったが、サルボウの致死体内濃度はアサリのそれよりやゝ高く、種類により体内への移行量が異なるものと思われる。

サルボウのむき身を濃度1ppmの供試液に浸漬し、4, 8, 24時間後に取り上げ分析した。結果を第8表に示す。4時間後にはすでにPCPの反応は現れ、24時間後にはへい死貝の体内濃度

に近い量が検出された。魚に比較するとその浸透は早い。

つぎに、1 ppm 供試液で48時間内にへい死したサルボウ2個を器官別に分けて分析した。PCP

第7表 貝類の体内PCP

試料	供試個数	濃度	致死時間	へい死個数	分析個数	貝肉重量	PCP反応
サルボウ	5	0 ppm	生存	0	2	10.0 g	-
	10	0.3	72～96	4	2	13.0	+
			96～120	2	2	11.4	++
			生存	4	2	14.2	++
	10	0.5	0～48	2	2	10.5	++
			48～72	4	2	16.5	++
			72～96	4	2	19.5	++
	10	1	0～48	8	2	15.0	++
			48～72	2	2	8.5	++
アザリ	2	0	生存	0	2	3.1	-
	10	0.3	96～120	4	4	5.8	+
			生存	6	6	11.6	+
	10	0.5	0～48	6	6	9.0	++
	10	1	0～48	6	6	9.0	++

第8表 浸漬した貝肉からの検出

試料	個数	濃度	浸漬時間	分析個数	貝肉重量g	PCP反応
サルボウのむき身	6	1 ppm	4	2	14.0	+
			8	2	13.5	+
			24	2	9.0	++

第9表 体内PCPの分布

部称	鰓	内臓	外套膜	足	その他
重量g	2.1	8.7	2.5	4.5	3.5
PCP反応	+	+	+	+	+

Pは体内各器官に分布しており、濃度では外套膜が最高であつた。結果を第9表に示す。

以上、貝類でも生貝、死貝をとわずP C Pに接触すれば体内にP C Pを蓄積、吸収することが判明した。

7 総括

以上、各種条件のもとで行なつた実験結果をまとめてみると第10表に示すようになる。P C Pに接触して、それが直接原因となりへい死した魚は、魚体の各部ともP C P量が多く、腐敗魚でも多量に検出される。他の原因でへい死した魚がその後にP C Pに接触した場合には、P C Pは肉部に多く分布し、内臓には全然ない、あつても微量であり、また全魚体のP C P量はきわめて少ない。生魚からP C Pが検出された場合には、一時、致死濃度以上のP C Pに接触したが、へい死をまぬかれてその後回復した魚である場合と、低濃度ではあるが長時間P C Pに接触した魚の場合がある。したがつて、生魚ではその他の状況とあわせて検討しなければ、魚体の分析だけでその影響を判別することは困難である。標本としてはつとめてへい死魚を採集することが必要である。

第10表 各条件下における魚体内のP C P反応

区分					24時間				48時間			
	鰓	内臓	肉	魚体	鰓	内臓	肉	魚体	鰓	内臓	肉	魚体
I	++	++	++	++	+	++	+	++	+	+	+	++
II	-	-	-	-	±	-	±	+	±	±	+	+
III	++	+	++	++	-	+	-	+	-	+	-	+
IV	-	-	-	-	±	+	±	+	±	+	±	+

I ; P C Pによるへい死魚

II ; P C P溶液に浸漬した死魚

III ; 回復魚

IV ; 致死濃度以下で飼育した魚

要約

- 1) フナ、サルボウ、アサリを用いて体内に蓄積；浸透したP C Pの検出を試みた。
- 2) P C Pに接触した魚貝類からは、その生死に関係なくP C Pを検出した。
- 3) P C Pによるへい死魚体内のP C Pは、供試液濃度や致死時間に関係なくほど一定であり致死体内濃度に限界があるらしい。また、この死魚を水洗してもP C Pの減少は少ない。
- 4) 他の原因でへい死した魚体がP C Pに接触した場合、肉部に多く分布するがその量は少なくて、内臓まではほとんど浸透しない。

- 5) 高濃度P C Pに接触し、へい死をまぬかれた生魚の内臓に蓄積されたP C Pは長期間（15日間）経過しても残存する。
- 6) 0.1ppm以下の濃度で魚を長期間飼育すると、体内にP C Pは蓄積され、致死体内濃度を越えても魚に異常はなかつた。また、低濃度で長期間飼育した魚の体内P C Pは、P C Pと全く同様の反応を示すが、その毒性は純粋のP C Pの場合に比較して低いようである。

終りに、本実験を行なうにあたり、P C Pの微量定量法について懇切なご指導を賜わつた九州大学農学部教授富山哲夫氏、へい死魚体中のP C P確認法についてご教授いただいた東北大学農学部津田勉氏に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 津田 勉・狩谷貞二, 1963. 日水誌, 29, (9).
- 2) 滋賀県水産試験場, 1963. 第36回全国湖沼河川養殖研究会資料プリント.
- 3) 富山哲夫, 1963. 西海区水産研究所主催, 除草剤P C Pの定量に関する講習.