

クルマエビ幼生の各発育段階に対する 有機リン系殺虫剤の急性毒性

青海 忠久・山本 博敬

Acute Toxicity of Organophosphorous Insecticide on the
Developmental Stages of Larval Prawn, *Panaeus japonicus*
Tadahisa SEIKAI and Hiroyoshi YAMAMOTO

クルマエビ種苗生産過程で大量斃死をひきおこす「中腸腺白濁症」は、その原因が明らかでないが、農薬・細菌・ウイルス等の単独または複合した原因によると考えられている^{1,2,3)}。農薬の中でも殺虫剤は、農業生産の場のみならず、マツクイムシ防除のための空中散布や、都市における防疫用薬剤等として、広範囲に用いられ、主に有機リン系殺虫剤が使用されている。有機リン系殺虫剤の自然界での挙動は、十分明らかにされていないが、鹿児島県の一部海域ではMEP:ND~0.9ppb, ダイアジノン:Tr~9.0ppbが検出され⁴⁾、大阪湾ではダイアジノン:0.01~0.06ppb検出されている⁵⁾。したがって、種苗生産に使用される海水も、微量ながら有機リン系殺虫剤に汚染されている可能性がある。また、中腸腺白濁症は、特定の発育段階(ポストラバ5-10期)に集中して発生する^{6,7,8)}ので、有機リン系殺虫剤に対し、特に高い感受性を示す時期があり、そのことと同症の発症とが、何らかの関連性をもつと考えられる。

そこで、中腸腺白濁症の発病機構に関する基礎的見解を得るため、1973年7月~9月の種苗生産過程

で得られたクルマエビ幼生を用い、各発育段階に対するMEP・ダイアジノン製剤の急性毒性試験を行い、2・3の知見を得たので報告する。

材料および方法

供試幼生 実験に供した各発育段階のクルマエビ幼生(*Panaeus japonicus*)は1978年7月27日~9月20日にかけて、長崎県水試増養殖研究所において室内1トンパンライト水槽・同12トンコンクリート水槽(3×4×1m)および屋外100トンコンクリート円型水槽(φ8×2m)で飼育したものである。実験に供するまでの餌料には、ゾエア期は水槽内に増殖させた浮遊珪藻あるいは油脂酵母、ミス期~ポストラバ1期(以下P₁期)はアルテミアノープリウス幼生、P₂₋₉期はアルテミアノープリウス幼生と市販のクルマエビ種苗用配合飼料、P₁₀期以降はクルマエビ種苗用配合飼料を用いた。

供試したクルマエビ幼生は、実験開始時の発育段階がそれぞれ、卵(4~8分割)、ノープリウス1期、ゾエア1期、ミス1期、P_{1,2}期、P₁₀期、P_{15,16}

期, P₂₀期を用いた。

供試検水の調整 九州三共K.K.社製の市販のMEP (dimethyl 4-nitro-m-tolyl phosphorothionate), ダイアジノン (diethyl 2-isopropyl-4-methyl-6-pyrimidinyl phosphorothionate) 各40%乳剤を用い, 実験直前に蒸留水で稀釈して1%の標準原液を作った。さらにそれを砂濾過海水で稀釈して, 100ppm~10ppbの標準液を作った。この標準液をさらに砂濾過海水で稀釈して, 所定の濃度の検水を調製した。また, 検水は濃度が10倍になる間を3~5段階に対数的に均等に分割した。

実験方法 実験に使用した容器は, 卵~ミシス期までは100ml ビーカー, P_{1,2}期は300ml ビーカー, P₅期以降は500ml ビーカーで, その中に各々100ml, 300ml, 500mlの所定の濃度の検水を満した。幼生を収容した後, アルミホイルで上部をおおい, 室内の直射日光の当らぬ所に置いた。容器を生海水かけ流しのウォーターバスに入れ, 各発育段階における実験では, 48時間以内の水温変動を±0.7°C以内とした。卵は各区20粒, 幼生は各区10尾ずつ収容し, 原則として無給餌とした。ただし, ゴエア期では, 飢餓によって対照区でも24時間後に10~20%, 48時間後には60~70%斃死するので, 検水中にモノクリシス (*Monochrysis lutheri*) を加えた実験も併せて行った。観察は, 実験開始後12・24・36・48時間後に行い, その都度クルマエビ幼生の生死を判定し, 斃死個体を除去した。なお生死の判定は, ノープリウス期~ミシス期までは, かい中電灯の光をあてて反応を示すものを生体とし, P_{1,2}期以降のものは, 槽底で横転していても遊泳肢を少しでも動かすものを生体とした。

その他, 実験方法の詳細については, 魚類および

ミジンコに対する毒性試験法¹⁴⁾によった。

結 果

MEPの毒性 各発育段階のクルマエビ幼生に対する, MEPの24時間および48時間 TLM値を表1および図1に示した。各発育段階の実験における平均水温は26.4~29.5°C±0.7°C以内であった。卵は実体顕微鏡下で発生を確認して, スポイドにより20粒ずつ各試験区に収容したが, 24時間の孵化率は対照区および0.1ppm以下の試験区で20~35%と低く, 1.0ppmで15%, 10ppmでは0%であった。したがって, 24時間 TLM値は0.1~10ppmの間に存在する

表1 クルマエビ幼生に対するMEPとダイアジノンを用いた急性毒性試験結果

Table 1 Results of acute toxicity tests with MEP and diazinon on larval prawn, *Panaeus japonicus*

Developmental stage	TLM value of MEP		TLM value of diazinon		WT Av. (°C)
	24hrs (ppb)	48hrs	24hrs (ppb)	48hrs	
Egg* ¹	0.1~10×10 ³	—	1~10×10 ³	—	28.8
Nauprius* ²	2.1×10 ³	—	2.2×10 ³	—	28.9
Zoea* ³	75.0	45.0	260	200	28.6
Zoea* ⁴	3.8	—	56.0	—	27.4
Mysis* ⁵	12.5	3.1	285	36.0	27.5
Mysis* ⁶	39.0	20.0	—	—	26.6
Post-larva 1st & 2nd	0.62	0.28	22.5	12.5	28.8
Post-larva 5th	0.18	0.10	12.5	4.4	28.8
Post-larva 10th	0.39	0.15	12.3	8.5	29.5
Post-larvae 15th & 16th	0.54	0.17	18.0	13.0	28.4
Post-larva 20th	0.51	0.32	35.0	13.0	26.4

- * 1 20 eggs were put into each vessel but their hatching rates were 15~40%, and they finished hatching within 24 hrs
- * 2 finished metamorphose to Zoea stage within 48 hrs
- * 3 fed on *Monochrysis lutheri*
- * 4 without food supply
- * 5 fed on diatom before tests in Zoea stage
- * 6 fed on ω-yeast before tests in Zoea stage

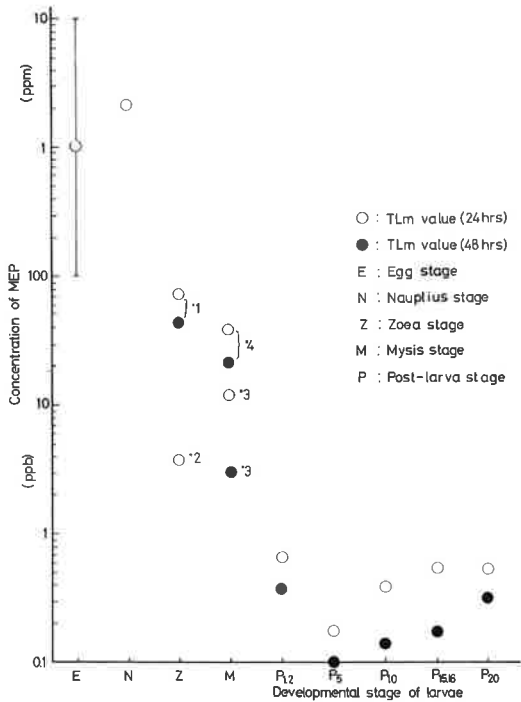


図1 各发育段階のクルマエビ幼生に対するMEPのTLm値

Fig. 1 TLm value obtained by MEP on each developmental stage of larval prawn

- * 1 : fed on *Monochrysis lutheri*
- * 2 : without food supply
- * 3 : fed on diatom before tests in Zoea stage
- * 4 : fed on ω -yeast before tests in Zoea stage

と推定された。ノープリウス期では、実験開始約30時間後にゾエア幼生に変態しはじめたので、24時間TLm値だけを求めたところ2.1ppmであった。ゾエア期では、無給餌で行うと先述のように幼生が衰弱するので、24時間TLm値だけを求めたところ3.8ppbであった。しかし、検水中にモノクリシスを添加すると、対照区は48時間後も斃死はなく、24時間TLm値は75ppbと前者の約20倍、48時間TLm値は48ppbであった。ミス期では、浮遊硅藻を摂餌させる従来通りの飼育方法でゾエア期をすごしたものは、24時間および48時間TLm値は12.5ppbおよび

3.1ppbであったが、ゾエア期に油脂酵母だけを摂餌させたものでは、それぞれ39ppbおよび20ppbとなり、約3倍・約7倍の高い値となった。ポストラーバ期の幼生では、24時間および48時間TLm値は、P₅期が最も低く、それぞれ0.18ppbおよび0.1ppbであったが、P₁₀期以降はやや高くなり、24時間TLm値は0.5ppb前後で一定する傾向が認められた。

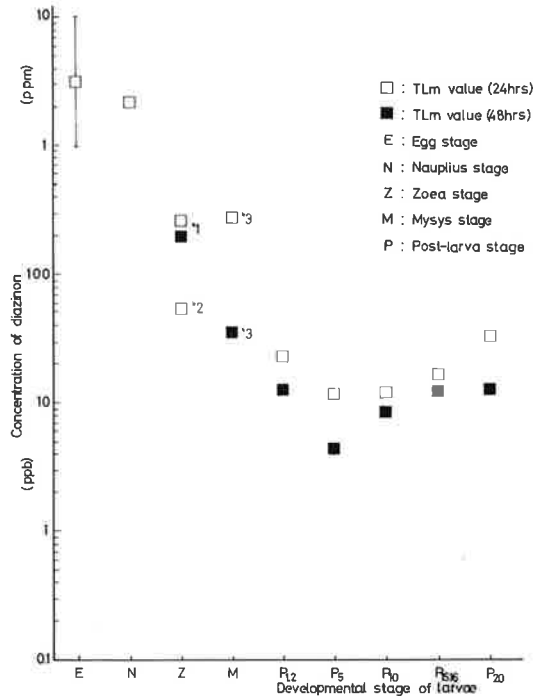


図2 各发育段階のクルマエビ幼生に対するダイアジノンのTLm値

Fig. 2 TLm value obtained by diazinon on each developmental stage of larval prawn

- * 1 : fed on *Monochrysis lutheri*
- * 2 : without food supply
- * 3 : fed on diatom before tests in Zoea stage

ダイアジノンの毒性 各发育段階のクルマエビ幼生に対する、ダイアジノンの24時間および48時間TLm値は、表1および図2に示した。卵ではMEPの場合と同様の理由で、1~10ppmの間に24時間TLm値が存在すると推定された。ノープリウス期

でも前述と同様に、24時間 TLm 値だけを求め、それは2.2ppmであった。ゾエア期では、やはり無給餌の場合の24時間 TLm 値が56ppbであったのに対し、モノクリシスを添加した場合は約5倍の260ppbを示した。ミス期では、ゾエア期に従来通りの飼育方法で飼育したものしか使用せず、油脂酵母を給餌したものとの比較は行わなかった。ポストラバ期においては P₅₋₁₀期で24時間および48時間 TLm 値が10ppb 前後の低い値を示し、その後はやや増加するか一定する傾向が認められた。

以上のように、MEP・ダイアジノン共に、ノープリウス期の幼生が最も低い感受性を示し、P₅₋₁₀期で最も高い感受性を示した。なお MEP・ダイアジノンによって処理したクルマエビ幼生には、中腸腺白濁症の症状は認められなかった。

考 察

発育段階等による感受性の相違 クルマエビ幼生は、発育段階で感受性が大きく異なり、24時間 TLm 値で比較すると、MEP・ダイアジノン共にノープリウス期で最大、P₅₋₁₀期で最小であった。MEP では前者が後者の約10⁴倍、ダイアジノンでは同 2 × 10²倍の値であった。このような特徴的な傾向は、玉乃井らの結果⁹⁾ともほぼ一致したが、この原因については本研究では明らかにできなかった。ただ、有機リン系殺虫剤はコリンエステラーゼ阻害作用を起す¹⁰⁾ことから、クルマエビ幼生の変態にともなう体内構造の変化、特に神経系の発達に対応するのではないかと推察される。

つぎに、ゾエア期で実験期間中にモノクリシスを給餌した区は、無給餌区に対し MEP では約20倍、ダ

イアジノンでは約5倍の24時間 TLm 値を示した。これについては、摂餌によるゾエア幼生の活力向上、モノクリシスによる各殺虫剤の吸着¹¹⁾、モノクリシス添加による検水の PH 上昇とそれに対する各殺虫剤の安定性の相違¹²⁾等の原因が考えられる。

またミス期の MEP に対する24時間および48時間 TLm 値は、ゾエア期での摂餌前歴によっても異った。これは、ゾエア期の餌の種類がミス期の幼生の活力に差を与えているためと考えられる。

以上のように、MEP・ダイアジノンに対するクルマエビ幼生の感受性は、発育段階、幼生の生理状態、実験条件等によって相違することが確かめられた。なお、各実験における検水の濃度設定は、標準溶液の稀釈によって行っているため、実際の濃度と実験期間中の濃度の推移を確かめておく必要があると考えられる。

中腸腺白濁症 MEP・ダイアジノンで斃死または衰弱したクルマエビ幼生に、本症の症状は認められなかった。しかし、両殺虫剤に対し最も感受性の高い時期と、本症の発症時期とが一致する。殺虫剤はクルマエビ種苗生産時期である夏期に最も多く使用され、一部の海域では本研究で得られた24時間 TLm 値を上まわる値も検出されている⁴⁾。有機リン系殺虫剤の毒性は、クルマエビの飼育条件等で大きく異なる可能性がある。

したがって、有機リン系殺虫剤の亜急性・慢性毒性まで含めて考えると、本疾病は細菌・ウイルス等との複合作用として何らかの関与があることも推察され、今後総合的な研究が必要であると考えられる。

農薬の毒性評価 一般に、淡水魚より海産魚の方が、農薬に対する感受性が高く¹³⁾、また先述のように、同一種が同一の薬剤に対しても、発育段階等に

よって著しく感受性が異なる。したがって、毒性評価を全長5 cmのコイと淡水ミジンコ類の成体のみで行う¹⁴⁾ことには、種や発育段階の相違を無視するという、大きな危険性を内包していると考えられる。実際に MEP とダイアジノンでは、毒性は前者が普通物、後者が劇物、魚毒性は前者がB類、後者がB_s類に区分されており⁵⁾、クルマエビ幼生に対する場合と毒性評価が逆転している。

さらに、有機リン系殺虫剤はハマチ等の脊椎骨異常をひきおこす^{13,16)}ことも知られており、年間数1000トンという原体が生産されている代表的な農薬¹⁵⁾については、自然界での挙動とその影響を明確にすると共に、各種の生物を多様な条件下において、毒性評価を行う必要があると考えられる。

要 約

1978年7月～9月にかけて、長崎県水試増養殖研究所において種苗生産したクルマエビ幼生を用い、市販の MEP・ダイアジノン乳剤の各発育段階にお

ける急性毒性試験を行い、以下の結果を得た。

- 1) 各発育段階の幼生に対する MEP の24時間 TLm 値は、ノープリウス期；2.1ppm, ゾエア期；7.5ppb, ミシス期；12.5ppb, ポストラバ期；0.18～0.62ppb で、48時間 TLm 値もやや低い、ほぼ同様の傾向を示した。
- 2) 各発育段階の幼生に対するダイアジノンの24時間 TLm 値は、ノープリウス期；2.2ppm, ゾエア期；260ppb, ミシス期；285ppb, ポストラバ期；12.5～35.0ppb で、48時間 TLm 値もやや低い、ほぼ同様の傾向を示した。
- 3) ゾエア期では、実験期間中の餌料藻類の存否、ミシス期では、実験開始前のゾエア期における摂餌前歴によって、24時間および48時間 TLm 値は変動した。
- 4) MEP・ダイアジノンで処理した幼生には、中腸腺白濁症の症状は認められなかったが、主な発症期である P₅₋₁₀期において、特に両殺虫剤に対する感受性が高まった。

Abstract

The organophosphorous insecticide is being used widely instead of organochloride. Since MEP and diazinon are employed most abundantly, the influence of acute toxicity of them on the developmental stages of larval prawn, *Penaeus japonicus*, was examined with rearing experiments. TLm values (24hrs) of MEP on larval prawn decreased logarithmically from nauplius stage (2.1ppm) to post-larval 5th stage (0.18ppb). After then the values were maintained in the same level. The maximum value obtained was about 10⁴ times larger than the minimum one throughout the entire experimental period. The change of TLm values (24hrs) of diazinon revealed the same tendency as of the case of MEP. The presence of diets in zoea stage and the feeding history in the previous stage of mysis both influenced the variability of TLm values (24 and 48hrs).

The results of the present experiments indicated that the toxicity of insecticides on various aquatic organisms should be examined carefully with experimental procedures before the actual use in the field.

文 献

- 1) 松里寿彦, 1977: 稚エビ中腸腺白濁症, クルマエビ養殖協会ニュース(2), クルマエビ養殖協会, 4-5.
- 2) 安永統男・山元直征, 1978; 1977年クルマエビ種苗のいわゆる中腸腺白濁症から分離した菌株の性状, 長崎水試研報, 4, 71-76.
- 3) 佐野徳夫・西村定一・小熊一雄・竹野 登, 1978: 水産無脊椎動物のウイルス病に関する研究-I, クルマエビ中腸腺白濁症に関するウイルス学的研究, 昭和53年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 53.
- 4) 鹿児島水試, 1976: 農薬(有機燐)による川海の汚染と海産動物への影響, 日本水産資源保護協会月報, (151), 4-16.
- 5) 川合真一郎・福島 実・小田国雄・宇野源太, 1978: 有機リン化合物による水界の汚染-とくにダイアジノンについて-, 環境技術, 7(7), 54-61.
- 6) 山本博敬・北田哲夫・山元直征・安永統男, 1977: クルマエビ種苗生産時に発生した中腸腺白濁症について, 長崎水試研報, (3), 10-15.
- 7) 山口県内海水試, 1975: クルマエビ幼期中腸腺白濁症(仮称)に関する研究, 昭和49年度指定調査研究総合助成事業, 病害研究結果報告書, 1-18.
- 8) 昭和53年度九州・山口ブロックかん水増殖分科会資料, 1979; P. 5.
- 9) 玉乃井省吾・平山和次, 1979; 農薬 MEP・Diazinon の甲殻類幼生に対する急性毒性, 昭和54年度日本水産学会春季大会講演要旨集, P.47.
- 10) 飯田 格他編, 1971: 現代農薬講座-I, 朝倉書店, 東京, 94-99.
- 11) 早津彦哉編, 1975: 生体濃縮. 微量有害物質の生体内運命, 講談社, 東京, 22-24.
- 12) 飯田 格他編, 1971: 現代農薬講座-III, 朝倉書店, 東京, 1-4. 13-16.
- 13) 馬場啓輔・奈良正人・岩橋義人・松島又十郎・佐々木正, 1974: 農薬の魚介類に対する毒性-II, ブリ稚魚の TLM 値測定中に見られた脊椎骨の変形について, 静岡水試研報, (9), 43-52.
- 14) 飯田 格他編, 1971: 現代農薬講座-II, 朝倉書店, 東京, 188-195.
- 15) 農林省農蚕園芸局植物防疫課監修, 1977: 農薬要覧, 日本植物防疫協会, 東京, p30. 34.
- 16) 金沢 純, 1976: 魚の脊椎骨変形と農薬, 科学, 46(2), 108-115.