

4 酸素欠乏等の魚への生理学的影響

樋口文夫

4-1 溶存酸素低下時のコイの生理学的反応

4-1-1 はじめに

溶存酸素は、魚類の生息条件を規定する因子として重要である。また水質汚濁が進んだ都市河川において溶存酸素の低下は、往々にして死亡事故の原因の一つとなる。ちなみに酸素欠乏（酸欠）による事故と判断された事例は、発生件数全体の50%以上を示し、夏期に頻発することが知られている。またこの時、死亡魚種は、都市河川の魚類相を反映してフナ、コイが多い¹⁾。

これらの事故原因は、水温、汚濁度等の他の要因、魚類の生活サイクル等が相互に関連して実際には複雑な発生機構となっているものと推測されるが、直接的な原因として酸素欠乏によるところが大きいと考える。

このようなことから、死亡事故原因究明のための基礎的知見を得るために溶存酸素低下時のコイの生理学的反応について検討した。

4-1-2 実験方法

4-1-2-1 実験魚

群馬県水産試験所産のマゴイ1才魚を用いた。供試したコイの体長、体重、肥満度はそれぞれ 99.8 ± 8.0 (mm)、 25.4 ± 6.4 (g)、 25.1 ± 2.1 であった（表4-1-1）。

4-1-2-2 実験装置

流水式実験装置を図4-1-1に示した。恒温室（20℃）内に設置した20l容量の硬質ガラスビン3本に脱塩素処理した水道水を入れ、その中にエア－およびN₂ガスを散気し溶存酸素の低下速度を調整した。この調整水は、実験魚を収容した20l容量の円筒ガラス水槽に1日あたり3から4交換の割合で流入するようにした。この水槽内では順化飼育中にエア－を散気し、実験期間は攪拌機を最小のレベルで回転させ、調整水を十分に混合し溶存酸素条件を均一になるようにした。排水は、サイフォン式の排水管を用いて、水位と交換率を一定にした。

4-1-2-3 実験方法

実験は3回行い、それを実験Ⅰ、実験Ⅱ、実験Ⅲとした。これらの実験期日、供試魚の状況を表4-1-1に示した。

供試魚は、恒温室で蓄養されたコイを用い、実験装置に対する順化飼育は1週間とし、実験期間を含め無給餌とした。

溶存酸素の低下は、調整槽のエア－を止め、N₂ガスを散気させ、また実験槽にエア－を止めることによって行った。低下速度の調整は、流量と実験槽のエア－の散気の程度を変化させ、また過密飼育によって行った。

採血は、実験開始前と開始後の溶存酸素量の低下と行動観察によって4～5回、各3～5尾を採取し

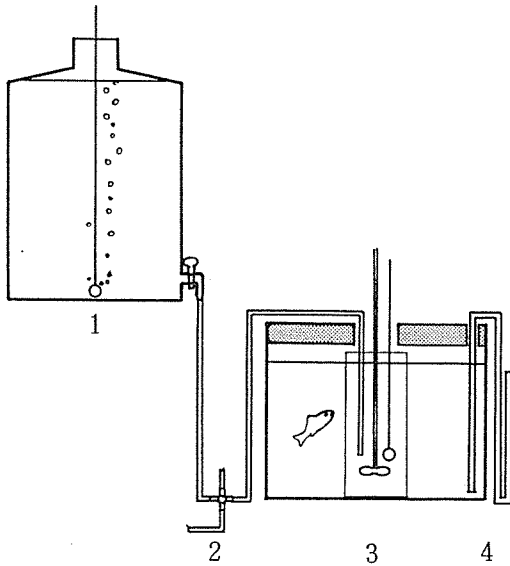


図4-1-1 実験装置（流水式）

1. 調整槽（容量20l、3本）、散気管（N₂ガス、エアー）
2. 導水管（塩化ビニール）、三つまた分枝バルブ
3. 実験槽（円筒形、容量20l）、攪拌機、防護網（ステンレス）、散気管（エアー）
4. サイフォン式排水管（塩化ビニール）

て行った。採血部位は尾部血管で、ヘパリン塗布した注射筒、静脈針を用いて採血した。

血液検査項目と方法は、ヘモグロビン量（Hb）がシアンメトヘモグロビン法、ヘマトクリット値（Ht）が毛細管法、赤血球数（RBC）がBurker-Turk血球計算板を用いた。またこれらからの値から赤血球指数を算出した。平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）であった。

血漿成分は、総タンパク量（TP）が屈折計法、グルコース量（Glucose）がオートルイジンホウ酸法、総コレステロール（TC）が酵素法、乳酸脱水素酵素（LDH）がテトラゾリウム法、無機リン量（InP）がモリブデンブルー法、浸透圧が蒸気圧法、ナトリウム（Na）、カルシウム（Ca）、マグネシウム（Mg）が原子吸光法を用いて分析した。

水質の分析項目と方法は、溶存酸素量（DO）は、ウインクラージ化ナトリウム変法、電気伝導度が伝導度計、アンモニア態窒素（NH₄ -N）がインドフェノール法を用いて分析した。

4-1-2-4 実験条件の設定

各実験区のDO量の変化は、図4-1-2に示し、その特徴を以下に記した。

(1) 実験Ⅰ

実験開始前が6.15mg/lが開始後0.5時間で4.0mg/l、それ以後徐々に低下し、最小値は約5時間後の1.16mg/lであったが、24時間後には高い値になっていた。

(2) 実験Ⅱ

開始前7.68mg/lが、開始後0.5時間で2.02mg/l、1時間後に1.10mg/l、約2時間後に0.5mg/l以下の低値を示し、それ以後5.3時間まで一定した低い値であった。

(3) 実験Ⅲ

開始前7.20mg/lが、開始後0.4時間で1.24mg/l、1時間後には0.40mg/lの低値を示し、それ以後0.5mg/lの低い値で119.3時間まで一定していた。

その他、順化飼育と実験期間の水質の状況は、表4-1-2、4-1-3に示した。

表 4 - 1 - 1 実験期日、供試魚の体長、体重、肥満度

実験	期 日	尾数	体長 (mm)		体重 (g)		肥満度	
			\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u
I	1987年1月21日～1月29日	20	97.0	6.4	22.3	3.9	24.4	2.8
II	1987年2月3日～2月12日	25	101.4	7.3	27.0	6.2	25.6	1.7
III	1987年2月18日～3月2日	30	99.8	8.0	26.1	7.3	25.1	2.0

注) \bar{x} は平均値、u は不偏分散からの標準偏差を示し、以下の表も同じ。

表 4 - 1 - 2 順化飼育期間中の水質の状況

実験	回数	DO量 (mg/l)		°C		pH		電気伝導度 ($\times 100 \mu S$)		NH ₄ -N (mg/l)	
		\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u
I	14	7.30	0.50	21.3	0.3	7.2	0.1	3.18	0.19	1.55	0.70
II	7	7.29	0.48	20.7	0.2	7.4	0.2	2.73	0.07	1.23	0.58
III	7	7.24	0.54	20.2	1.1	7.5	0.2	2.65	0.07	1.40	0.33

表 4 - 1 - 3 実験期間中の水質の状況

実験	回数	°C		pH		電気伝導度 ($\times 100 \mu S$)		NH ₄ -N (mg/l)	
		\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u
I	6	21.2	0.2	7.0	0.2	2.85	0.10	1.46	0.38
II	6	21.0	0.7	6.7	0.3	2.70	0.08	1.23	0.20
III	8	21.0	0.5	7.2	0.2	2.62	0.09	0.95	0.25

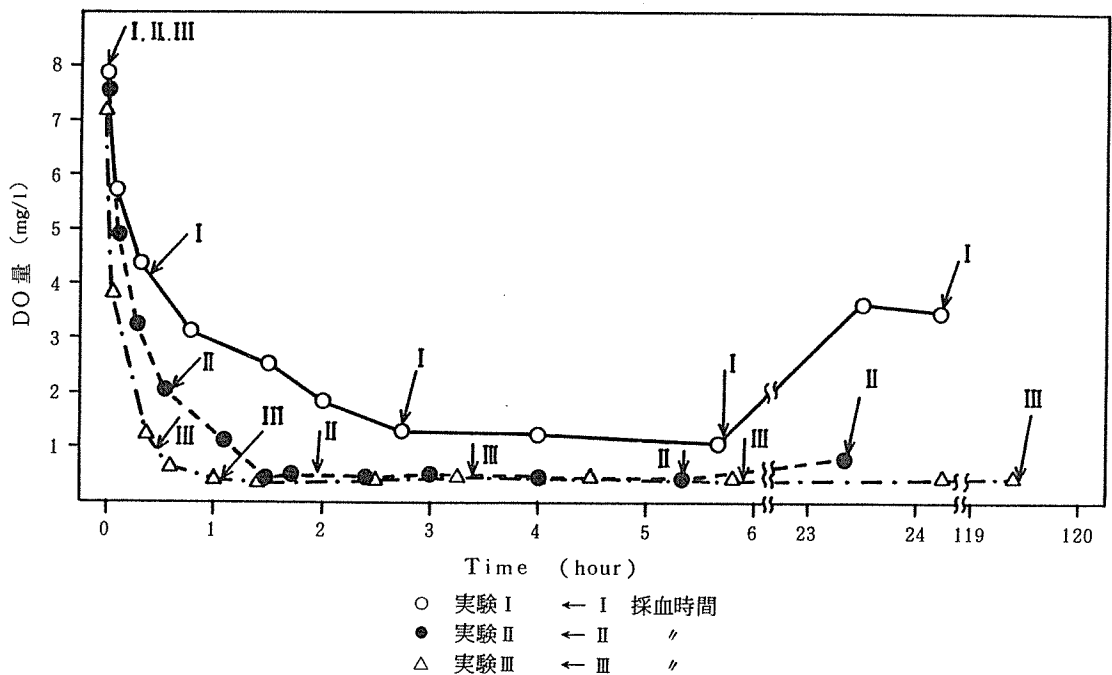


図 4-1-2 実験期間中のDO量の変化

4-1-2-5 解析方法

実験開始前の各血液成分の平均値をコントロールとして、開始後の値とを統計学的に2つの平均値の比較（少数例の場合）で検討した。

比較した実験開始後のそれぞれの時間は、実験Ⅰが0.4、2.7、5.7、24.3時間の4回、実験Ⅱが0.6、2.0、5.3、23.3時間の4回、実験Ⅲが0.5、1.1、3.4、6.0、119.5時間の5回であった。

4-1-3 結果

4-1-3-1 実験魚の行動観察

(1) 実験Ⅰ

開始後0.4時間後、DO量4.4mg/lで鰓蓋運動がやや多くなるが、2.7時間後、1.5mg/l、その後5.7時間、1.2mg/lになっても鼻上げ行動は出現しなかった。

(2) 実験Ⅱ

開始後0.2時間、DO量4.90mg/lで鰓蓋運動が増加し、活発に遊泳していた。1時間後、1mg/l以下になると遊泳行動が鈍化し、鰓蓋運動が非常に多くなった。1.5時間後、水槽内の中位、底位に静止する個体が出現し、約2時間後、DO量0.5mg/lになると鼻上げ行動を示す個体が出現した。しかし5.6時間後、0.4mg/lになっても、横転魚、死亡魚は出現しなかった。約23時間後、DO量0.8mg/lであった。

(3) 実験Ⅲ

開始後0.5時間でDO量1mg/lの時、鰓蓋運動が多くなり、体色が黒化する個体が出現した。1時間後、0.4mg/lの時、遊泳行動が鈍化し、鼻上げ行動が出現した。0.5mg/l以下の低濃度の持続で、6.0

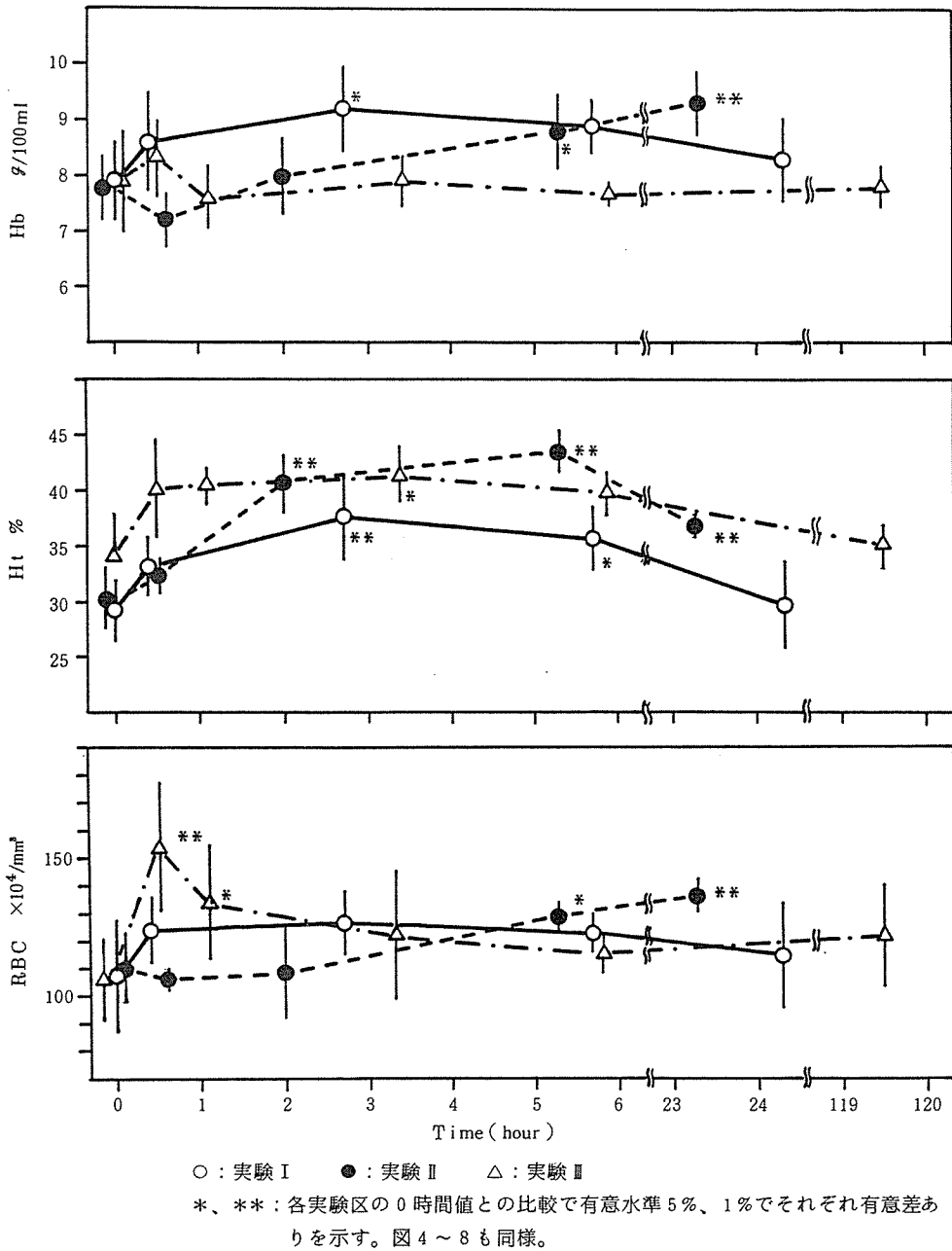


図4-1-3 溶存酸素低下時のヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、赤血球数(RBC)の変化

時間では鼻上げ行動を示す個体がいるが、底に静止するものもいた。119.5時間後になると鼻上げ行動は消失し、静止状態であった。

4-1-3-2 ヘモグロビン量 (Hb)

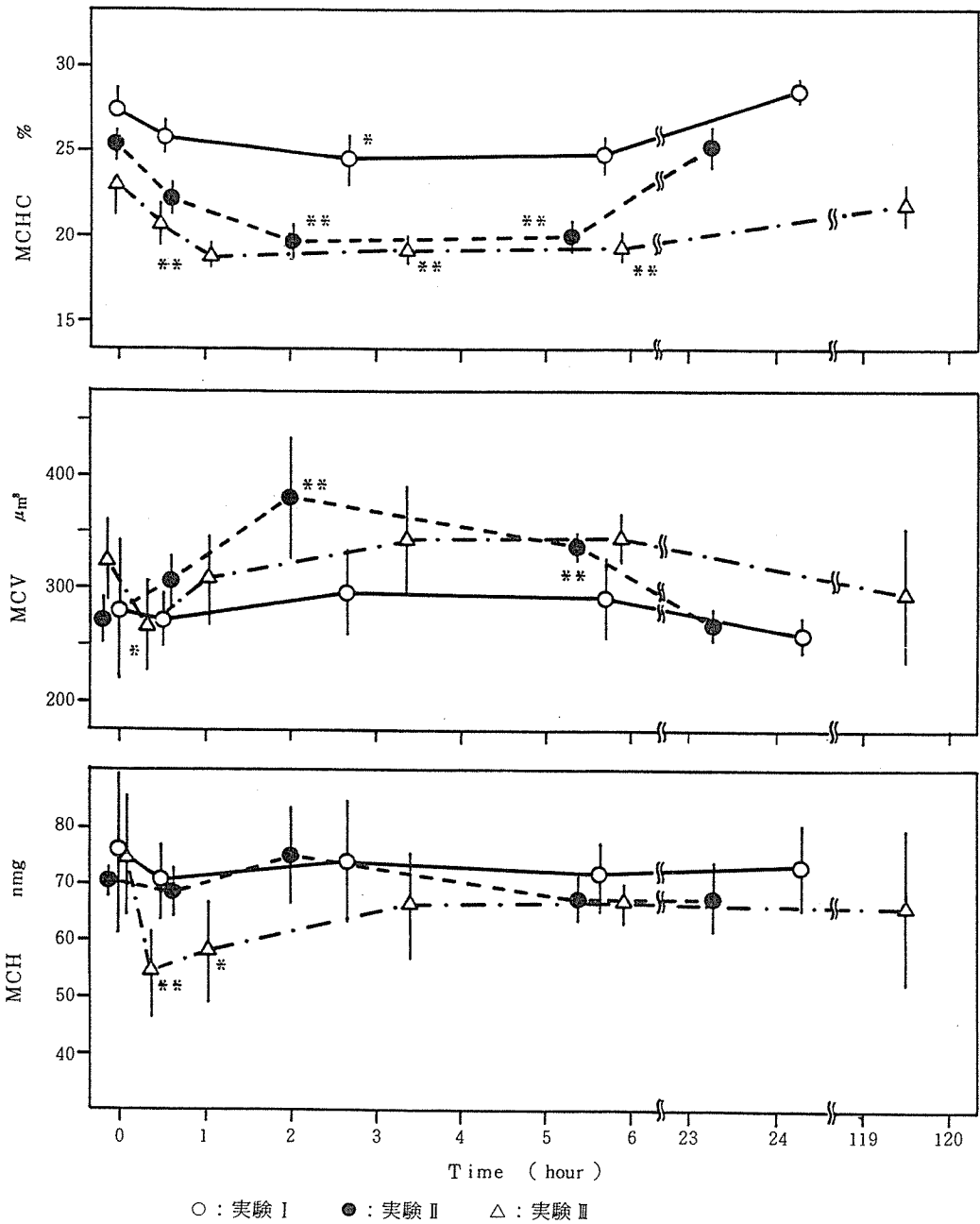


図 4-1-4 溶存酸素低下時の平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)の変化

低下速度が遅い実験Ⅰは、開始初期に増加し、2.7時間後より徐々に低下していった。低下速度が1時間に1mg/lの実験Ⅱは、開始後0.4時間で若干低下するが、それ以後、23.3時間まで増加していった。低下速度が1時間に0.4mg/lの実験Ⅲは、開始初期のわずかに増加するがそれ以後、119.5時間まで変

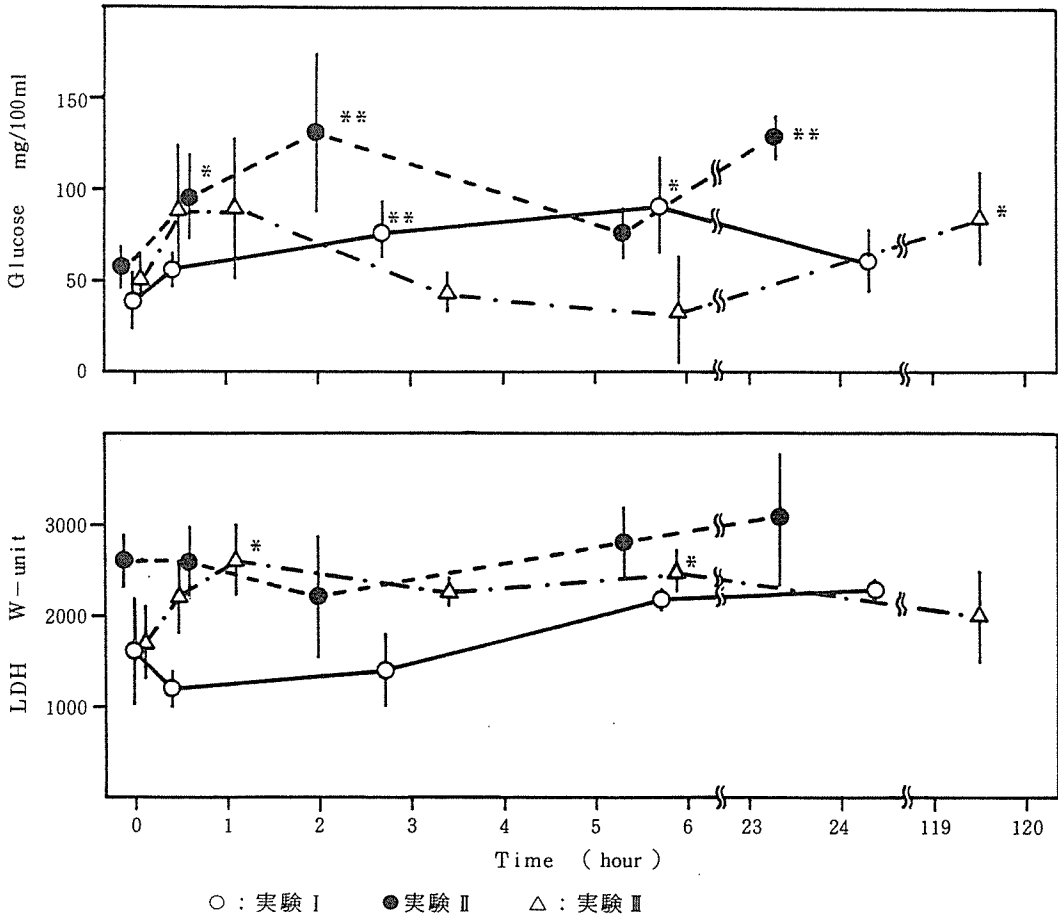


図4-1-5 溶存酸素低下時の血漿グルコース量 (Glucose)、乳酸脱水素酵素 (LDH) の変化

化がなかった。

統計学的には、実験Ⅰの2.7時間、実験Ⅱの5.3時間、23.3時間で有意差を示し、いずれも高い値であった (図4-1-3、上)。

4-1-3-3 ヘマトクリット値 (Ht)

いずれの実験区も開始初期に増加し、2から3時間後にピークがあり、それ以後、漸減していった。

統計学的には、実験Ⅰが2.7、5.7時間後、実験Ⅱが2.0時間後から23.3時間後まで、実験Ⅲが3.4時間後に有意差を示し、開始前より高い値であった (図4-1-3、中)。

4-1-3-4 赤血球数 (RBC)

実験Ⅰは、開始後3時間まで増加し、その後低下した。実験Ⅱは5.3、23.3時間後に増加していた。実験Ⅲは0.5時間後に高い値になり、その後低下していった。

統計学的には、実験Ⅱが5.3、23.3時間後、実験Ⅲが0.5、1.1時間後に有意差を示した (図4-1-3、下)。

4-1-3-5 平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)

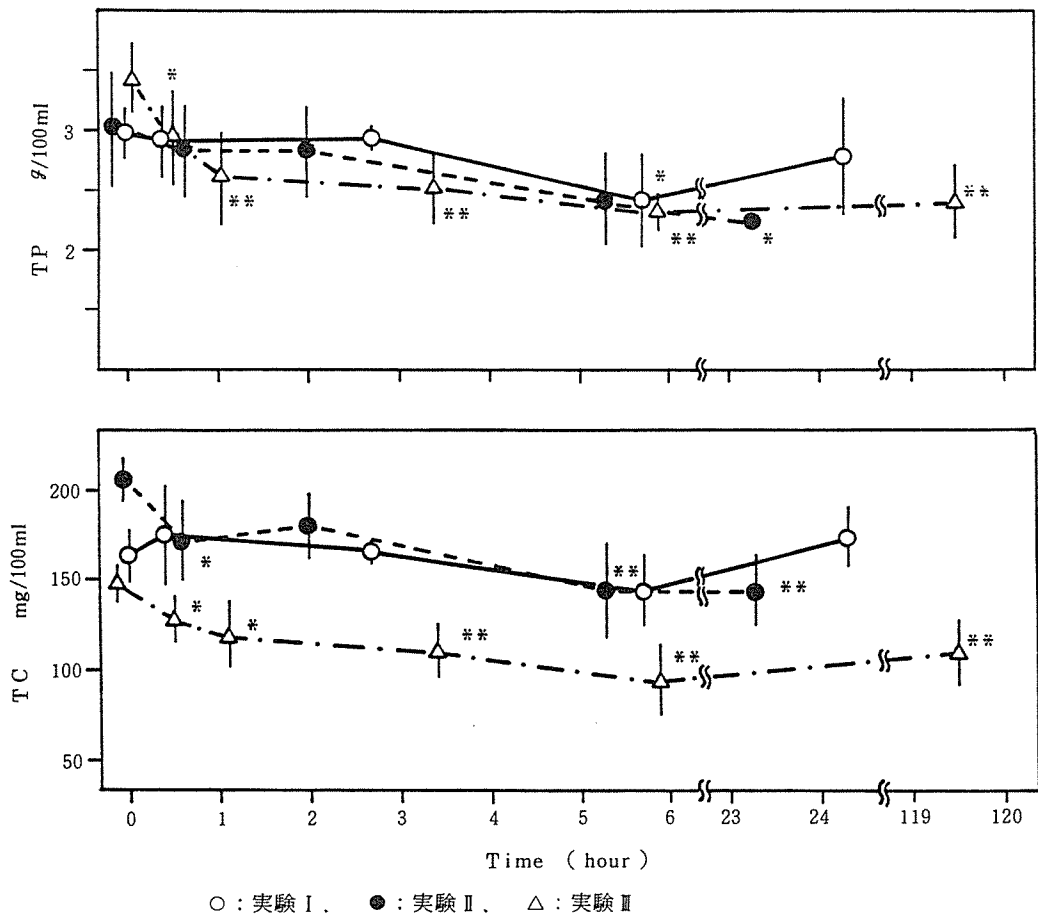


図4-1-6 溶存酸素低下時の血漿蛋白量 (TP)、総コレステロール (TC) の変化

実験Ⅰ、実験Ⅱ、実験Ⅲとも初期に低下し、5時間後に増加していく傾向を示した。特に実験Ⅱ、実験Ⅲは、顕著であった。

統計学的には、実験Ⅱ、実験Ⅲが開始後1時間から6時間の期間で、また実験Ⅰが2.7時間後で有意差を示した(図4-1-4、上)。

4-1-3-6 平均赤血球容積 (MCV)

実験Ⅰは、変化がほとんどなかったが、実験Ⅱ、実験Ⅲは、開始初期に増加傾向を示した。ただ実験Ⅲは0.5時間後で低下していた。その後、5時間以後、低下していった。

統計学的には、実験Ⅱが2時間から6時間後まで有意な高い値、実験Ⅲが0.5時間で有意差を示した(図4-1-4、中)。

4-1-3-7 平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)

実験Ⅰ、実験Ⅱは開始前後で差が少なかった。実験Ⅲは0.5時間後に低下、その後増加、3.4時間後から一定の値となっていた。

統計学的には、実験Ⅲが初期時間で有意差を示したのみであった(図4-1-4、下)。

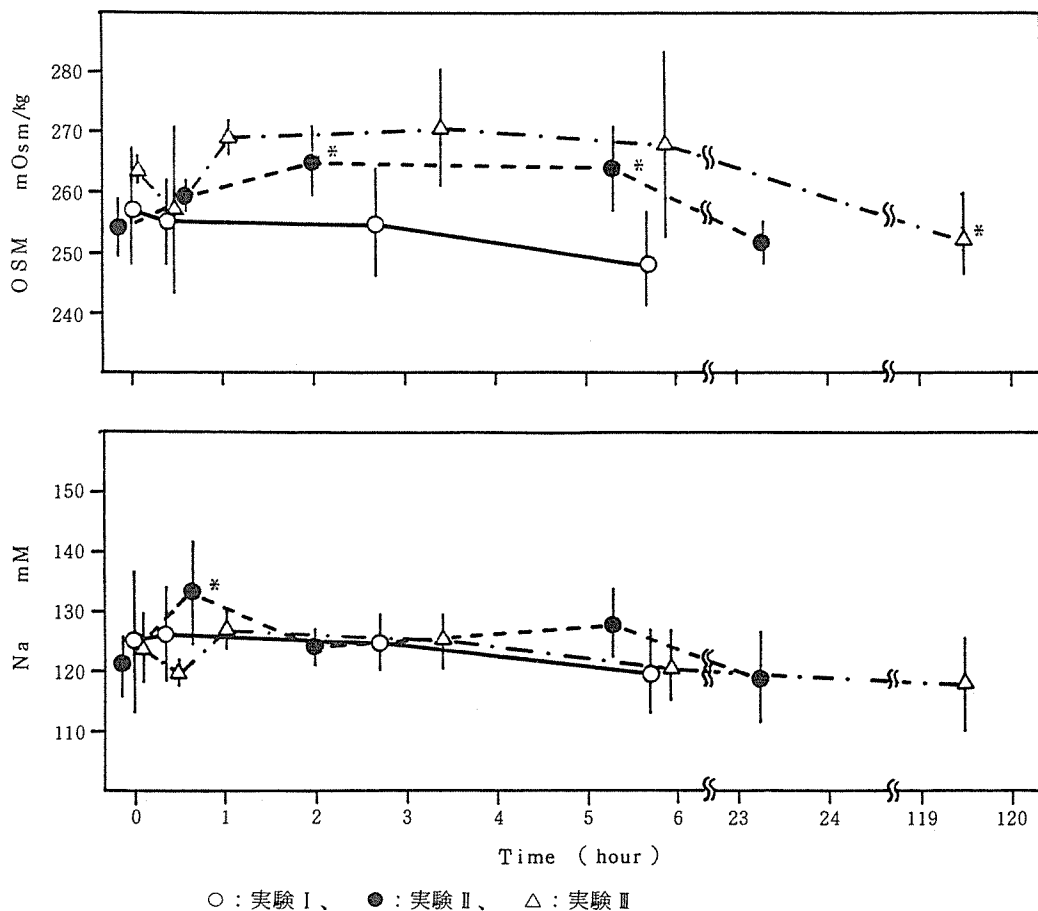


図4-1-7 溶存酸素低下時の血漿浸透圧 (OSM)、血漿ナトリウム量 (Na) の変化

4-1-3-8 グルコース量 (Glucose)

実験Ⅰと実験Ⅱ、実験Ⅲは、異なる変化を示した。実験Ⅰは開始後6時間まで徐々に増加していくが、実験Ⅱ、実験Ⅲは1時間後から2時間後の比較的短時間で増加し、4時間、6時間後には低下していた。しかし23時間、119時間後は再び増加していた。

統計学的には、実験Ⅰが2.7時間、5.7時間後で、実験Ⅱが5.3時間以外の全部で、実験Ⅲが119時間後でそれぞれ有意差を示し、開始前より高い値であった (図4-1-5、上)。

4-1-3-9 乳酸脱水素酵素 (LDH)

実験Ⅰ、実験Ⅱは初期に減少するが、その後若干増加した。しかし変化は少ない。実験Ⅲは初期に増加し、その後徐々に減少するが、開始前より高い値であった。

統計学的には、実験Ⅲが1.1時間、6.0時間後で有意差を示した (図4-1-5、下)。

4-1-3-10 総タンパク量 (TP)

実験Ⅰ、実験Ⅱ、実験Ⅲは、ほぼ同様な変化を示した。初期に減少し、5時間から6時間まで持続する。

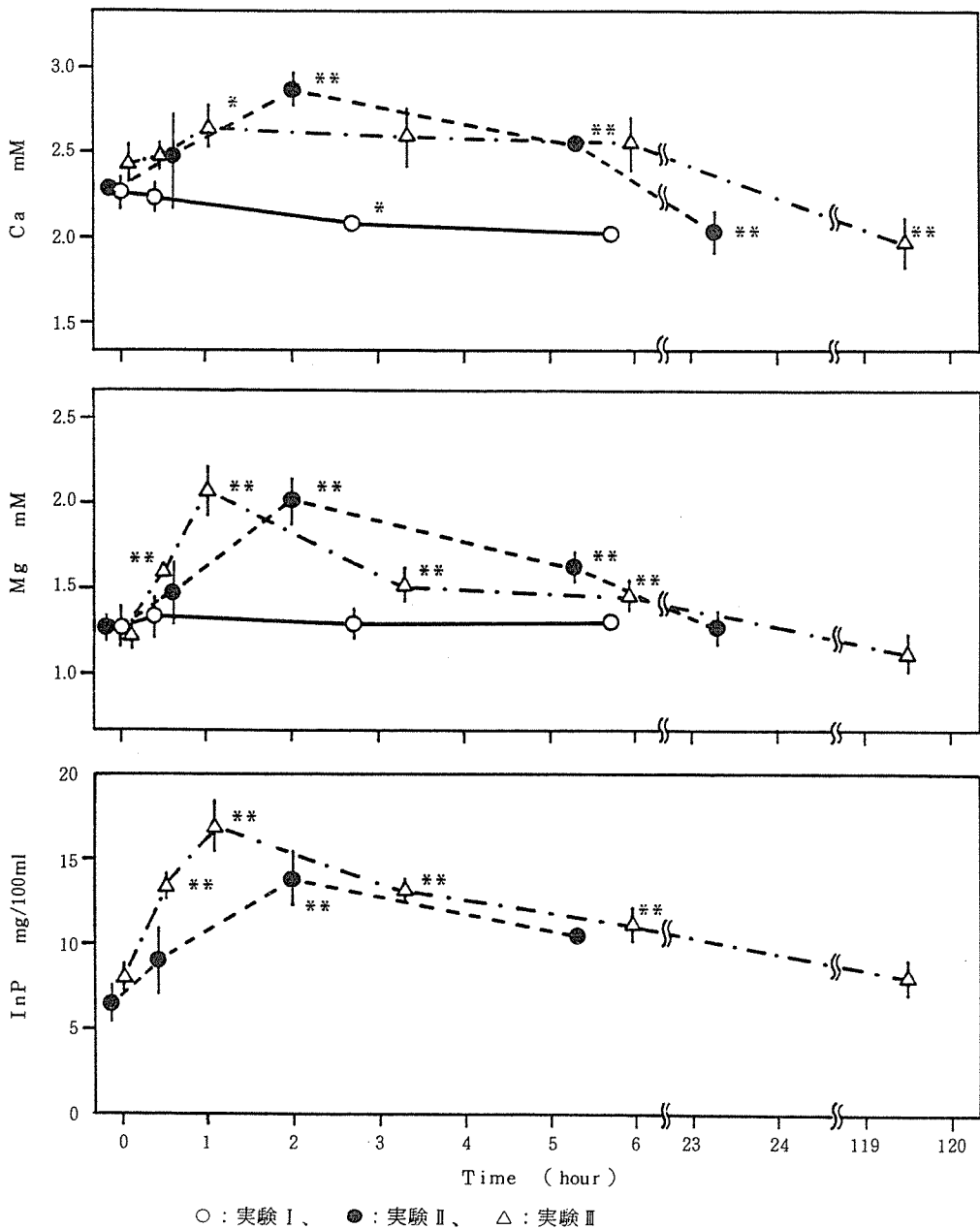


図4-1-8 溶存酸素低下時の血漿カルシウム量 (Ca)、マグネシウム量 (Mg)、無機リン量 (Inp) の変化

統計学的には、実験Ⅰが5.7時間後、実験Ⅱが23.3時間後、実験Ⅲが全部の値で有意差を示した (図4-1-6、上)。

4-1-3-11 総コレステロール (TC)

実験Ⅰは、わずかな増、減があるが、開始前後の差は少なかった。実験Ⅱ、実験Ⅲは、開始初期より

低下し、特に実験Ⅲは顕著であった。

統計学的には、実験Ⅱが2時間を除く全て、実験Ⅲが開始後の全てに有意差を示し、いずれも開始前より低い値であった(図4-1-6、下)。

4-1-3-12 浸透圧 (OSM)

実験Ⅰは、開始前後であまり差はないが、実験Ⅱは、2時間後まで増加し、その後減少していった。実験Ⅲは初期に減少し、1時間後には増加した。しかし6時間後、119時間後は減少した。

統計学的には、実験Ⅱが2時間、5~6時間後、実験Ⅲが119時間後で有意差を示した(図4-1-7、上)。

4-1-3-13 ナトリウム量 (Na)

実験Ⅰは、開始前後で差はなく、実験Ⅱ、実験Ⅲは、初期に増加、減少の変化を示したが、その後変化は少なかった。

統計学的には、実験Ⅱが0.6時間後で有意差を示した(図4-1-7、下)。

4-1-3-14 カルシウム量 (Ca)

実験Ⅰは、開始前後であまり差がなかった。実験Ⅱ、実験Ⅲは、初期に増加し、約3時間後には減少していった。

統計学的には、実験Ⅱが2時間、5.3時間、23時間後で、実験Ⅲが1.1時間、119時間後で有意差を示した(図4-1-8、上)。

4-1-3-15 マグネシウム量 (Mg)

実験Ⅰは、開始前後で差がなかった。実験Ⅱ、実験Ⅲは、DO量の低下速度が速いほど立ち上がり早く、1時間後にはピークに達し、また減少も早かった。

統計学的には、実験Ⅲが0.5時間から6.0時間後の間、実験Ⅱが2時間と5.3時間後で有意差を示した(図4-1-8、中)。

4-1-3-16 無機リン量 (InP)

実験Ⅰは、測定していないために実験Ⅱ、実験Ⅲだけを見ると、開始後1~2時間でピークに達し、実験Ⅲは著明に増加していた。それ以後、徐々に減少していった。

統計学的には、実験Ⅱが開始後2時間、実験Ⅲが119時間後を除く全てに有意差を示した(図4-1-9)。

4-1-4 考察

魚類の酸素欠乏時の生理学的反応について検討した報告は多い。しかし溶存酸素量の低下速度に応じた生理学的変動の過程について検討した報告は少ない。またコイは、市内河川に分布する他の魚種に比較して酸素欠乏に対して耐忍性の強い魚種である。筆者らの報告²⁾では、DO量と魚種別出現範囲が平均値7.2mg/l、最小値2.6mg/l、最大値13.0mg/lと幅が広く、他の魚種より低酸素状態の水域で出現していた。これらのことから今回は、コイが実際に死亡事故によって多く死亡するという理由を明確にするために、特に低下速度、低下量に注目して検討した。

今回の実験条件の設定にあたって、実験装置を流水方式とし、N₂ガスの通気、過密飼育として酸素の低下速度を調整した。この種の実験は、酸素条件以外のCO₂、NH₄-N等の魚類に由来する有害物質が増加し、実験の結果の解釈を複雑にする。しかし今回は、実験開始前後でpHが大差なく、NH₄-N

も影響を及ぼすほどの濃度ではなく³⁾、酸素低下時の反応をみる上で支障ないものと考えた。

酸素欠乏時の血液性状の適応的变化としてヘモグロビン量の増加、ヘマトクリット値の増加、また貯蔵血液からの動員、造血促進等によって赤血球数の増加が知られている⁴⁾。経時的な変化としては、急性的には、赤血球の膨脹^{5,6)}による赤血球容積 (MCV) の増加、それを反映したヘマトクリット値の高値、この時赤血球数とヘモグロビン量は変化なし。しかしヘモグロビンの機能は、赤血球中のATP等の有機リン酸化合物濃度の減少によるヘモグロビン酸素親和性を増加させる。慢性的には、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数を増大させていく⁷⁾。今回の血液性状、行動観察等の結果からみると、溶存酸素の低下速度の違いによってその反応も異なっていた。すなわち低下速度が遅い実験Ⅰは、開始後0.4時間、DO量約4mg/lの時、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数がわずかに増加し、2.7時間後、DO量1.4mg/lでヘモグロビン量、ヘマトクリット値が高い値を示し、その後徐々に減少していった。約24時間後、DO量の若干の増加とともにこれらの値は開始前の値に近づいた。この様に低下速度が遅い時、初期反応として先の慢性的な血液性状と同様な傾向を示した。

次に低下速度が早い実験Ⅱは、開始後0.6時間、DO量2mg/lの時、ヘマトクリット値がやや増加するが、他の項目と大差ない。しかし2時間後、DO量0.5mg/lの鼻上げ出現時、ヘマトクリット値が増加し、赤血球容積 (MCV) の増加、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) の減少が著明になった。5.3時間後、低DO量が持続し、ヘモグロビン量、赤血球数は増加していった。その後、1日経過するとヘマトクリット値が減少し、他の項目はさらに増加していった。MCHC、MCVは開始前の値に回復した。この低下速度で鼻上げ出現時のヘマトクリット値、MCVの増加は、赤血球の膨脹を示唆し、約5時間後の変化はヘモグロビンの合成、貯蔵赤血球の増員等が関与した結果であり、DO量の変化に応じたいくつかの適応現象を経時的に示したものと思われる。

低下速度が非常に早い実験Ⅲは、開始後0.5時間で1mg/lとなり、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、赤血球数が増加し、特に赤血球数で有意差を示した。しかし1時間後、DO量0.40mg/l、鼻上げ出現時、上記の血液性状はヘマトクリット値だけが高値をたもち他は減少していった。この傾向は、約6時間後まで続き、その後、低下していった。MCHC、MCV、MCHは初期時間で低下、鼻上げ行動時にはMCHCの有意な減少、MCVの若干の増加をともなった。これらから開始初期に実験Ⅰと同じ結果であったが、その後は実験Ⅱの結果と似ていた。この初期反応は低酸素ショックによる血液濃縮を反映したのかもしれない。しかし浸透圧等の他の項目では急激な増加がみられず、血液濃縮だけでは説明がつかない。赤血球の動員等の他の機構が関与したと思われる。また実験Ⅰ、実験Ⅱの様な一定の傾向を示さなかったことは、低下速度が急激な場合、初期反応に致死の段階まで至らない乱れを生じた結果とも考えられる。

次に血漿成分のグルコースは、酸素欠乏時のストレスによって増加することが知られている^{8,9)}。このグルコースは、主に肝臓等から血液中に放出され各組織へ運ばれ活動代謝量を亢進させ、呼吸頻度、遊泳行動等を高めるエネルギー源となっている。また無酸素状態では活動代謝によって消費されたグルコースは解糖の結果として乳酸になっていく。この時に関与する酵素が、乳酸脱水素酵素 (LDH) である。LDHは肝臓、筋等に含まれている。このLDHは、ニジマス、コイ等では水温上昇期に高い値を示すことが報告されている^{10,11)}。今回のグルコース量、LDHの結果は、グルコース量が実験Ⅰでは最低DO量に達した約5時間後で最も高い値となり、24時間後のDO量が増加した時には減少していた。実験Ⅱ、実験Ⅲは鼻上げ開始2時間後、1時間後で最も高い値を示し、5、6時間後は減少、約23時間、

119時間後では再び増加していた。これらの変化は、低酸素状態に至るまでの活動状況、呼吸頻度の増加、鼻上げ行動等の出現と関連した変化と思われる。しかしその後のグルコース量の変化は、水槽の底位に静止の活動状況と関連が示唆されるが、再び増加した理由は不明である。

血漿中のタンパク、脂質成分のコレステロールは似た変化を示し、実験Ⅰは開始前後で差がないが、実験Ⅱは徐々に減少、実験Ⅲが有意な減少を示していた。これは低下速度の程度に応じた変化であった。酸素欠乏時、タンパク量の変化については一致した結果となっていない¹²⁾。しかし野外飼育のコイ、河川に生息するフナ類等の報告では、夏期のタンパク、コレステロールが減少するという結果となっており、高水温期の活動代謝量の増大との関連性が示唆されるが^{11, 13)}、低酸素時との関連性は明確ではない。

浸透圧は、実験Ⅱが開始後に増加していったが、他の区はあまり変化がなかった。ナトリウム量は、どの区も変化がなかった。これらの成分が、酸素欠乏時どのような反応を示すのかの知見は少ない。ただ浸透圧の結果から、開始後1時間から5時間の間、若干高値を示したことはこの種のストレス反応として位置づけてもよいかもしれない。

カルシウム量は、窒息、運動時等で血液のpHが低下し、溶解、排泄によってカルシウム量が低下することが知られている¹⁴⁾。今回、実験Ⅱ、実験Ⅲでは、開始後5～6時間で高い値が持続し、それ以後23.3時間、119.5時間後には減少していたことなどから、低酸素欠乏時の初期反応は増加するものと思われる。

マグネシウム量、無機リン量は、カルシウムより明確な変化を示し、初期の低下速度に応じた、そして鼻上げ開始の時間に一致したピークを示した。このマグネシウムは、急激な溶存酸素低下のストレス反応として代謝に必要な酵素活性の促進に関与したのかもしれない。また無機リンは、増加することが知られているが、その意味は明確ではない。マグネシウムと同じ挙動を示したことは相互に関連をもった反応系に関与しているのかもしれない。

以上のことから溶存酸素量の低下速度に応じた生理学的変動は、急性的であり、急激な低下になれば、ストレスとしてより強く影響を及ぼす機序もある。

コイは、正常に生育するのに必要な限界酸素量が、水温20～23℃の時、3mg/l、飽和度にして50%である^{15, 16)}。また鼻上げ行動の出現は、0.5mg/l前後とし、実験Ⅱ、実験Ⅲの0.4～0.5mg/lとほぼ一致した結果となった。この行動の出現は、低下速度との関連はあまりなかったが、生理機能の面からは、異なる初期反応を示していた。すなわち赤血球の膨脹と一過性の赤血球数の増加等の現象、低下速度に応じたマグネシウム、無機リンの増加、タンパク等の減少であった。コイの場合、DO量が0.3mg/l以下になると死亡すると言われている。今回、実験ⅢでのDO量の最小値0.36mg/lであり、急激な溶存酸素量の低下であってもその濃度レベルでは死亡しないものと思われる。

4-1-5 まとめ

市内河川で発生する魚の死亡事故の原因究明の一助とするためにコイの溶存酸素量低下速度に応じた変動過程を生理学的側面から検討した。

- (1) 実験条件は、流水式とし、低下速度を3段階に変えて行った。それらを実験Ⅰ、実験Ⅱ、実験Ⅲとした。
- (2) 行動観察は、実験Ⅱ、実験Ⅲが呼吸頻度の増加、遊泳行動の鈍化、溶存酸素量0.5mg/l以下で鼻上げ行動が出現した。

- (3) 血液性状は、実験Ⅰで漸増、実験Ⅱは初期反応としてヘマトクリット値の増加、実験Ⅲはヘマトクリット値、赤血球数の増加があった。
- (4) 血液指数は、特に実験Ⅱ、実験ⅢでMCHCの減少、MCVの増加等があった。
- (5) 血漿成分のグルコース量は、実験Ⅰが漸増、実験Ⅱ、実験Ⅲが鼻上げ行動出現時に高値を示した。
- (6) タンパク量、総コレステロールは、全体的に減少し、実験Ⅲでは有意な低値を示した。
- (7) 血漿無機成分は、浸透圧、ナトリウムが開始前後でそれほど差がないが、カルシウム、マグネシウム、無機リンは開始初期に有意に高い値を示していた。

以上から溶存酸素量の低下に関してコイは鋭敏に反応し、低下速度が急激な時は、ストレス反応としてより強く影響を及ぼし、鼻上げ等の呼吸困難症状を示した。しかし溶存酸素量の低下だけでは死亡に至らない。

文 献

- 1) 二宮 勝幸：横浜市における魚類へい死事故について、横浜市公害研究所報、11、161～167 (1986)。
- 2) 樋口 文夫・水尾 寛己：淡水魚類による水域環境評価法の検討、水域生物指標に関する研究報告、公害研資料No.88、43～74 (1989)。
- 3) Wedemeyer, G. A., W. T. Yasutake: Clinical Methods for the Assessment of the Effect Environmental Stress on Fish Health, 89, U.S. Fish and Wildlife Service, Washington, 3～6 (1977)。
- 4) 尾崎 久雄：呼吸の生理、魚類生理学講座2、緑書房、東京 (1975)。
- 5) Sovio, A., M. Nikinmaa: The Swelling of Erythrocytes in Relation to the Oxygen Affinity of the Blood of Rainbow trout, *Salmo gairdneri*, In Stress and Fish, (Edited by Pickering A. D.), Academic Press, New York, 103～119 (1981)。
- 6) Sovio, A., M. Nikinmaa, K. Nyholm, K. Westman: The Role of Gills in the Responses of *Salmo gairdneri* during Moderate Hypoxia, *Comp. Biochem. Physiol.*, 70A, 133～139 (1981)。
- 7) 山口 勝己：呼吸の生理学、魚の呼吸と循環、水産学シリーズ24、恒星社厚生閣、東京、51～62 (1978)。
- 8) 石岡 宏子：飼育水の酸素分圧低下によるマダイの血液性状変化、日水誌、48、165～170 (1982)。
- 9) Love, R. M.: The Chemical Biology of Fish Vol.2, Academic Press, New York, 270～283 (1980)。
- 10) Sauer, D. H., G. Haider: Enzyme Activities in the Serum of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson; the Effects of Water Temperature, *J. Fish Biol.*, 11, 605～617 (1977)。
- 11) 樋口 文夫、水尾 寛己、畠中 潤一郎、福嶋 悟：野外飼育におけるコイに血液成分の季節、年齢、性による変化、横浜市公害研究所報、10、101～117 (1985)。
- 12) 尾崎 久雄：血液の生理、魚類生理学講座Ⅰ、緑書房、東京 (1975)。
- 13) 樋口 文夫：鶴見川のフナによる水域環境評価の研究、亜種別、性別、季節別の形態、血液、血清成分について、横浜市公害研究所、11、111～132 (1986)。

14) 尾崎 久雄：未発表資料

15) Itazawa, Y., T. Takeda: An Estimation of the Minimum Level of Dissolved Oxygen in Water Required for Normal Life of Fish-II, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 45, 323~327 (1979).

16) Takeda, T., Y. Itazawa: An Estimation of the Minimum Level of Normal Life of Fish-III, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 45, 329~333 (1979).

4-2 溶存酸素低下と水温上昇時のコイの生理学的反応

4-2-1 はじめに

4-1では、溶存酸素量の低下速度の違いによってコイは鋭敏に反応し、低下速度が急激な時ほど生理学的に強く影響を及ぼす。また溶存酸素量の単一要因だけでは、致死段階まで至らず水温等の他の要因との関係でみていく必要があることが明らかになった。実際、野外での死亡事故の発生は、夏の高温期に頻発することからみて溶存酸素量とともに水温の影響も大きいものと考えた。これらのことから溶存酸素低下と水温上昇とがコイにどのような影響を及ぼすのか、生理学的側面から死亡に至るまでの機序を明らかにするために検討した。

4-2-2 実験方法

4-2-2-1 実験魚

実験魚は、前回と同様の群馬県水産試験所産のマゴイ1才魚を用いた。実験に供試したコイの尾数は、97尾、体長、体重、肥満度はそれぞれ 108.7 ± 12.0 (mm)、 31.4 ± 9.8 (g)、 24.5 ± 2.0 であった(表4-2-1)。

4-2-2-2 実験装置

前回と同じ流水式実験装置を用いた。水温の設定は、石英ヒーターを調整槽内あるいは実験槽に入れサーモスタットの方法により行った。なお実験中、調整槽では、 N_2 ガスを散気させ、実験槽は、槽内の水温、酸素条件が均一になるように攪拌機を用いて行った。

4-2-2-3 実験方法

実験は条件を変えて4回行い、それらを実験IV、V、VI、VIIとした。各実験区の実施期日、供試魚の体長、体重、肥満度を表4-2-1に示した。

実験前の供試魚の状況は、前回と同様であった。また溶存酸素量の低下の方法、血液分析、水質分析の項目と方法もほぼ同様であった。水温の変化は、サーモスタット付き石英ヒーターで調節していった。

4-2-2-4 実験条件の設定

各実験区の溶存酸素量(DO量)、水温の変化は、図4-2-1、4-2-2に示した。以下に実験区ごとに説明する。

(1) 実験IV

DO量の変化は、実験開始前が 7.00 mg/lで、開始後0.5時間で 1.90 mg/l、1時間後には 0.5 mg/l以下になり、その後6時間以上 0.40 mg/l前後の低い値が持続した。

水温の変化は、開始前が 21.3°C 、0.5時間で 22.0°C 、1時間で 23.0°C まで上昇し、最大値は、5.5時間後の 29.2°C であった。

水温上昇の近似式は、 $WT(^\circ\text{C}) = 21.5 + 1.54t$ であった。

表 4 - 2 - 1 実験期日、供試魚の体長、体重、肥満度

実験	期 日	尾数	体長 (mm)		体重 (g)		肥満度	
			\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u
IV	1987年 3月12日～3月19日	28	103.4	12.2	29.3	11.3	25.3	1.7
V	1987年 6月12日～6月17日	20	98.9	8.2	24.8	6.2	25.1	1.7
VI	1988年 3月11日～3月17日	20	110.7	0.9	33.2	7.5	24.1	1.7
VII	1988年 4月13日～4月19日	29	115.7	10.1	36.7	8.6	23.4	2.1

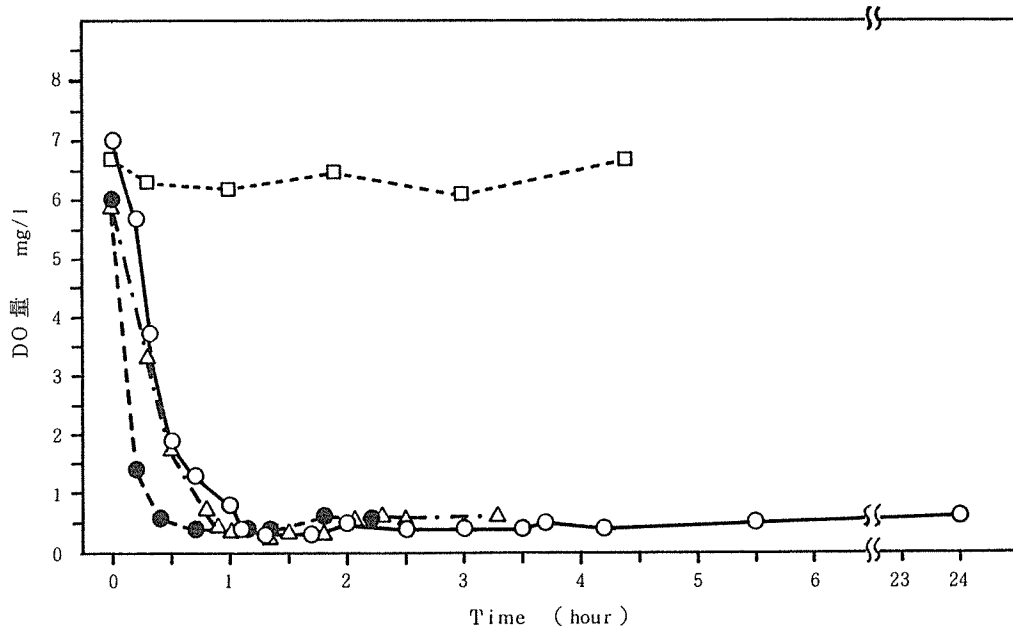
注) \bar{x} は平均値、uは不偏分散からの標準偏差を示し、以下の表も同じ。

表 4 - 2 - 2 順化飼育期間中の水質の状況

実験	回数	DO量 (mg/l)		°C		pH		電気伝導度 ($\times 100 \mu S$)		NH ₄ -N (mg/l)	
		\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u
IV	7	7.56	0.32	20.6	0.2	7.6	0.1	2.41	0.12	1.53	0.40
V	4	6.91	0.68	21.4	0.3	7.3	0.1	2.45	0.07		
VI	11	6.62	0.56	19.4	0.7	7.4	0.1	2.53	0.14	1.49	0.73
VII	10	6.76	0.71	19.6	0.5	7.3	0.1	2.03	0.09	1.50	0.49

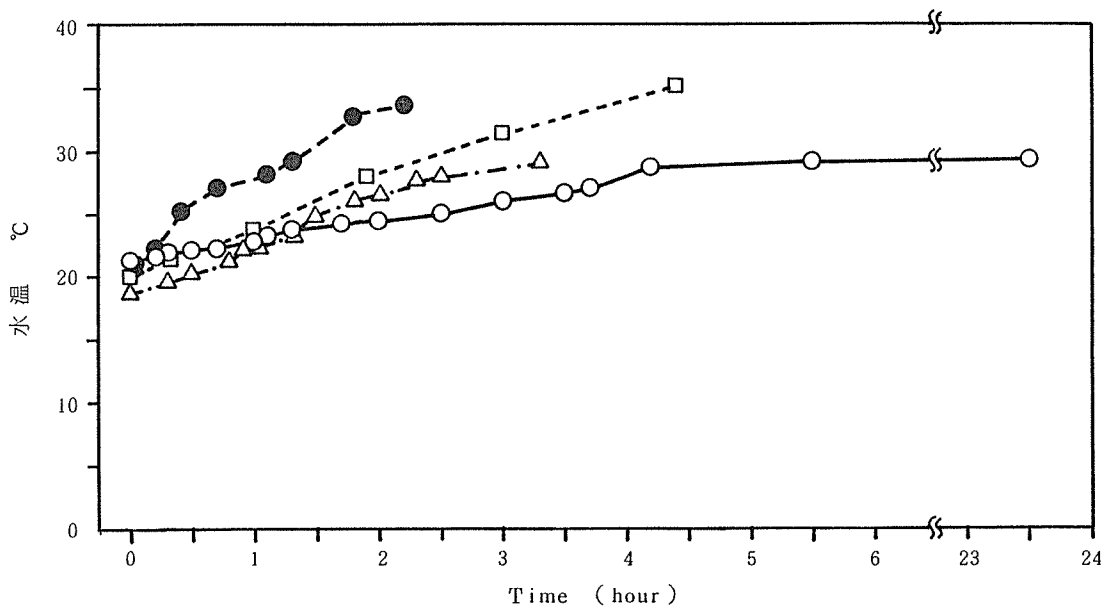
表 4 - 2 - 3 実験期間中の水質の状況

実験	回数	pH		電気伝導度 ($\times 100 \mu S$)		NH ₄ -N (mg/l)	
		\bar{x}	u	\bar{x}	u	\bar{x}	u
IV	4	7.0	0.1	2.61	0.19	1.26	0.24
V	3	7.1	0.1	2.65	0.16		
VI	9	6.8	0.1	2.69	0.11	1.20	0.36
VII	5	7.3	0.2	2.27	0.18	1.40	0.08



- 実験Ⅳ、採血時間（0、0.7、1.3、3.7、23.7時間）
- 実験Ⅴ、 “（0、0.7、1.3、1.8、2.2時間）
- △ 実験Ⅵ、 “（0、1.0、1.5、2.0、3.3時間）
- 実験Ⅶ、 “（0、0.5、1.0、2.0、3.3時間）

図4-2-1 実験期間中のDO量の変化



- 実験Ⅳ、 ● 実験Ⅴ、 △ 実験Ⅵ、 □ 実験Ⅶ

図4-2-2 実験期間中の水温の変化

(2) 実験V

DO量の変化は、開始前が6.04mg/l、0.5時間で約0.5mg/l、1時間後には0.4mg/lになり、その後2.2時間まで0.5mg/l前後の低い値を示した。

水温の変化は、開始前が21.0℃、2.2時間後には33.8℃の高い値であった。水温上昇の近似式は、 $WT(°C) = 22.1 + 5.7t$ であった。

(3) 実験VI

DO量の変化は、開始前が5.90mg/lで、0.5時間で1.80mg/l、1時間後に0.5mg/l以下の0.30mg/l、それ以後3.3時間まで0.5mg/l前後の低い値であった。

水温の変化は、開始前が18.7℃で、1時間後に22.6℃、3.3時間後で29.2℃になった。近似式は、 $WT(°C) = 18.9 + 3.6t$ であった。

(4) 実験VII

DO量の変化は少なく、6.1から6.7mg/lの範囲であった。

水温の変化は、開始前が20.0℃で、1時間後が24.0℃、4.4時間後で35.2℃となっていた。

近似式は、 $WT(°C) = 20.5 + 3.5t$ であった。

実験水槽の順化飼育期間と実験期間の水質の状況を表4-2-2、4-2-3に示した。

順化飼育期間中のDO量、水温、pH、電気伝導度、 NH_4-N は、各区とも差はあまりなく、 NH_4-N は1.5mg/l前後を示し、前回の時とほぼ同様であった。

実験期間中のpH、電気伝導度、 NH_4-N は、実験Vを除いて、いずれも前回に比べて差は少なかった。

4-2-2-5 解析方法

実験開始前を0時間とし、開始後の行動観察、水質の変化等を考慮しつつ血液成分を分析していった。

その結果、実験IVは0時間、0.7時間、1.3時間、3.7時間、23.7時間後に各5尾を採取し、実験に供した。

実験Vは、0時間、0.7時間、1.3時間、1.8時間、2.2時間後に採取していった。

実験VIは、0時間、1時間、1.5時間、2時間、3.3時間後であった。

実験VIIは、0時間、0.5時間、1時間、2時間、3.3時間、4.4時間後であった。

統計学的な解析方法は、各実験区ごとに0時間の血液成分の平均値を対照として実験開始後のそれぞれの値を2つの平均値の比較（少数例の場合）で比較検討していった。

4-2-3 結果

4-2-3-1 実験魚の行動観察

(1) 実験IV

実験開始後0.3時間、DO量が0.3mg/l、水温20.0℃の時、鰓蓋運動が多くなり、活発に遊泳する。0.6時間後、遊泳行動が鈍り、1.0時間後、鼻上げ行動が出現した。その時のDO量は、0.8~0.5mg/lに低下、水温は22.0℃で、その後0.3時間には全魚が鼻上げ行動を示した。2.0時間後、DO量が0.46mg/l、水温が24.5℃の時、鼻上げ行動を示す個体と底位に静止する個体が出現し、鰓蓋運動の低下等を示した。

4.2時間後、横転魚が1尾出現したが、他は23.7時間後まで底位静止の状態が続き、死亡魚は出現しなかった。

(2) 実験V

開始後0.3時間で、DO量が約0.6mg/l、水温が25℃の時、鰓蓋運動、遊泳行動が活発になった。

0.6時間後、遊泳行動の鈍化、突発的な異常行動を示す個体が出現し、その後0.1時間の短期間に鼻上げ行動を示した。その時のDO量は、0.4mg/l、水温が27.2℃であった。この行動は1.2時間まで続き、1.3時間には全魚鼻上げ、横転魚の出現、1.5時間後は死亡魚1尾が出現し、その後2.2時間まで横転魚、死亡魚が出現していた。死亡魚が出現した時のDO量は、約0.4mg/l、水温は30℃であった。

(3) 実験VI

実験開始0.5時間後、DO量が1.8mg/l、水温が20.2℃の時、鰓蓋運動が多くなり、0.9時間後、鼻上げ行動の出現、DO量は0.4mg/l、水温は22.3℃であった。1.5時間後、全魚が鼻上げし、また突発的な異常行動を示す個体が出現した。さらに2時間後、異常行動、鼻上げとともに横転魚の出現、そして2.1時間から3.0時間の間に12尾が死亡していった。この時のDO量の最小値は、0.26mg/l、水温の変化は、約26℃～29℃に上昇していた。

(4) 実験VII

開始後1.5時間、DO量はほぼ6mg/l以上の値で、水温が20℃～26℃の上昇で鰓蓋運動が多くなり、その後、4.4時間まで底位を活発に遊泳していた。4.4時間後、水温が35.2℃に達すると横転魚と異常行動が出現したが、鼻上げ、死亡する個体はなく、底位に静止する個体が多かった。

4-2-3-2 ヘモグロビン量 (Hb)

実験IVは、開始後1.3時間の時、わずかに低下し、それが3.7時間、23.7時間まで続いた。実験Vは、1.8時間後まで低下していた。実験VIは、1.5時間、2.0時間に低下していた。実験VIIの水温のみの変化では、2.0時間後まで増加し、その後低下していった。

統計学的には、実験IVの23.7時間、実験VIの1.5時間、2.0時間で有意差を示した。いずれも開始前に比して低い値であった。また実験Vの2.2時間後でも有意差を示したが、これは高い値であった(図4-2-3、上)。

4-2-3-3 ヘマトクリット値 (Ht)

実験IV、実験V、実験VIとも増加し、特に実験V、実験VIは開始後1時間以内で急激に増加し、その後減少していった。実験IVは3.7時間まで徐々に増加していた。実験VIIは、開始後2.0時間まで増加していたが、他の実験区に比してその傾向は顕著ではなかった。

統計学的には、実験IV、実験VIが全ての時間で有意差を示した。実験Vは0.7時間のみで、実験VIIは2.0時間で有意差を示し、いずれも開始前より高い値であった(図4-2-3、中)。

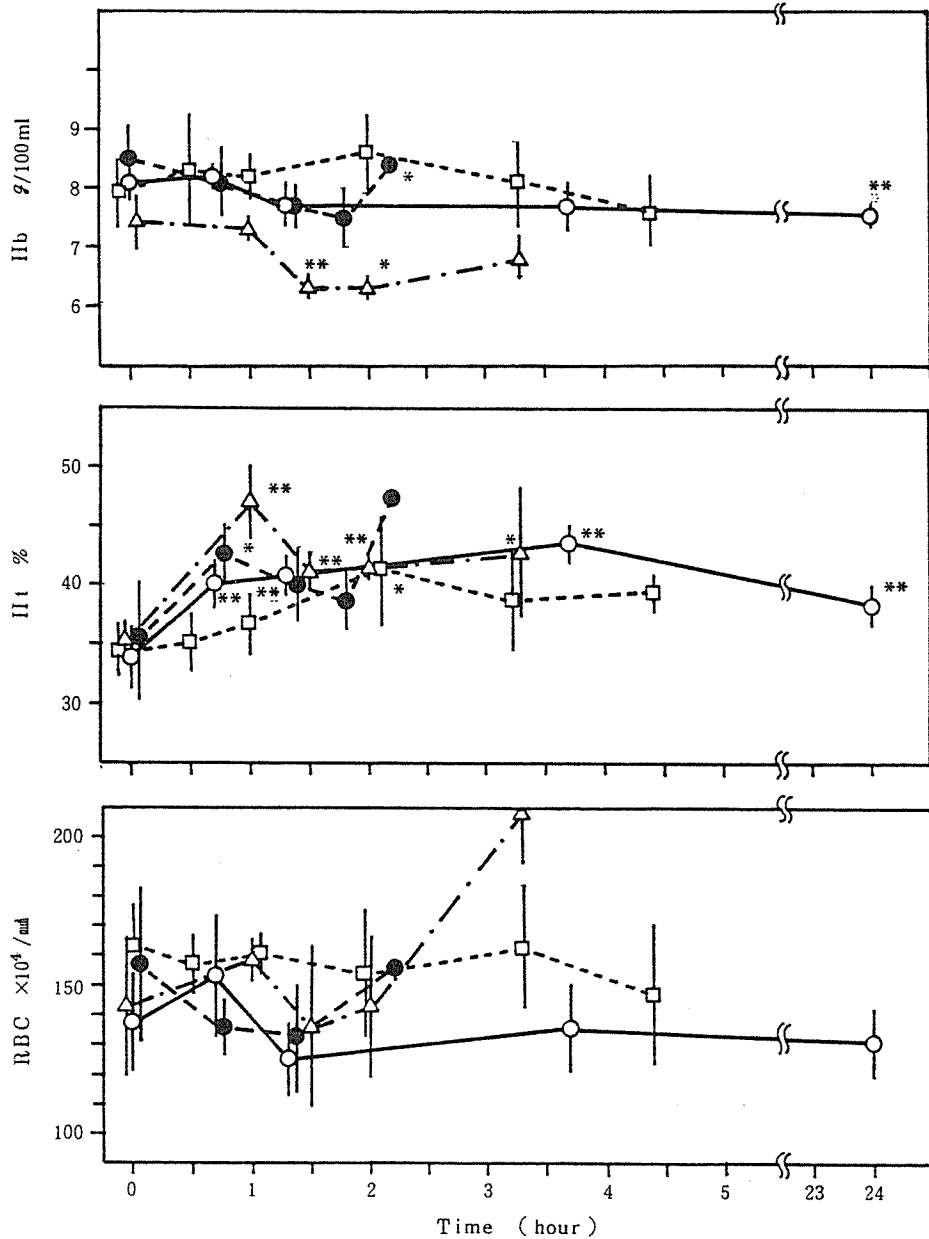
4-2-3-4 赤血球数 (RBC)

実験IV、実験VIは、0.7時間後で増加していたが、その後1.3時間、1.5時間に低下し、また増加していった。実験Vは、1.3時間まで低下し、その後増加していった。実験VIIは、ほとんど変化がなかった。

統計学的には、全ての実験区で有意差を示さなかった(図4-2-3、下)。

4-2-3-5 平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)

実験IV、実験V、実験VIとも実験開始後に低下し、その後も低下傾向にあった。実験VIIは、わずかに低下したが、開始前とあまり変わらなかった。



○：実験Ⅳ、 ●：実験Ⅴ、 △：実験Ⅵ、 □：実験Ⅶ
 *、**：各実験区の0時間値との比較で有意水準5%、1%でそれぞれ差ありを示す。図4-2-4~8も同様。

図4-2-3 溶存酸素低下・水温上昇時のヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)赤血球数(RBC)の変化

統計学的には、実験Ⅳが1.3時間以後で、実験Ⅵが1.0時間から2.0時間の間で、実験Ⅶが2.0時間でそれぞれ有意差を示した(図4-2-4、上)。

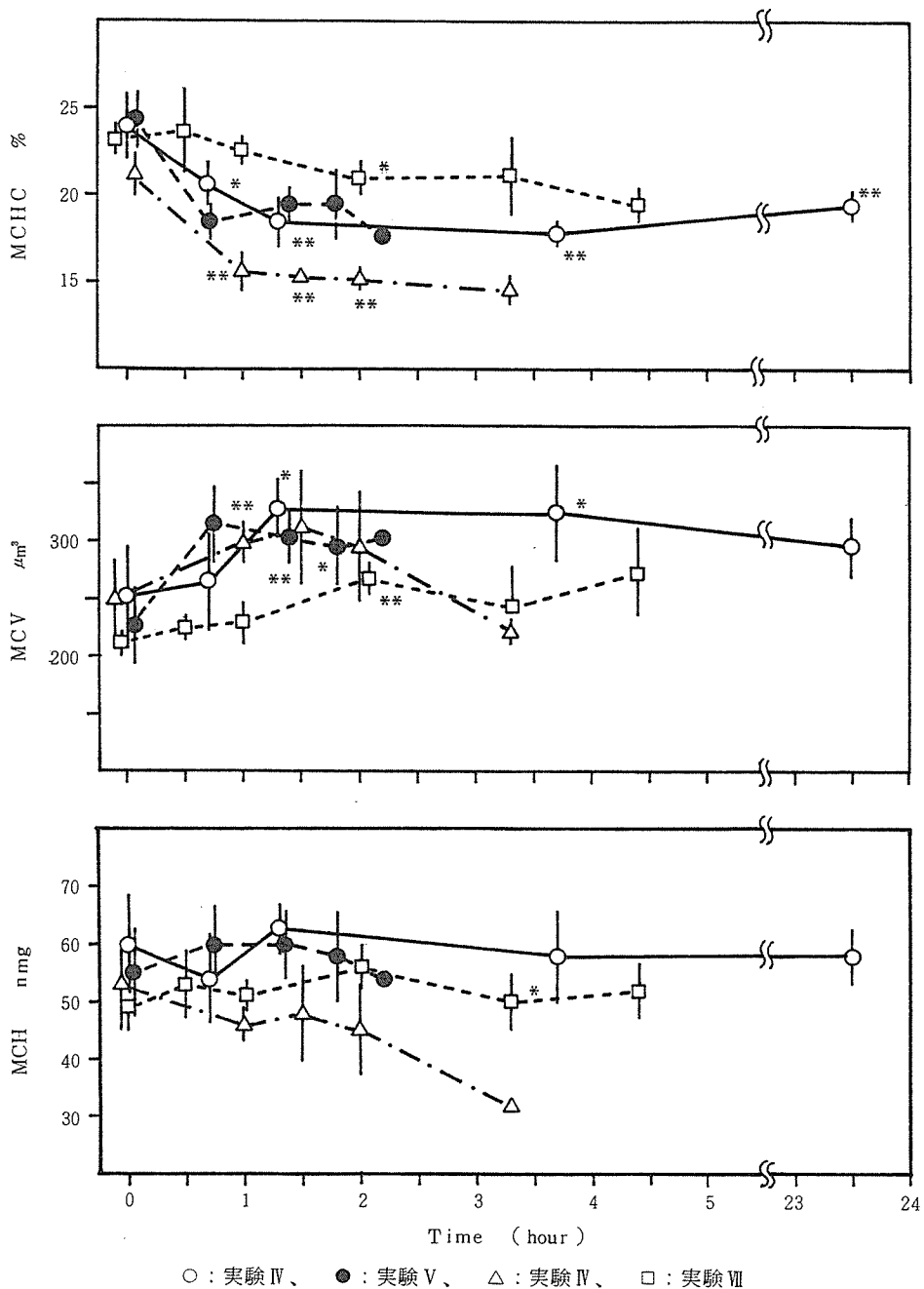


図4-2-4 溶存酸素低下・水温上昇時の平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) の変化

4-2-3-6 平均赤血球容積 (MCV)

実験IV、実験V、実験VIは、開始1.5時間以内に増加し、その後実験V、実験VIは低下していった。

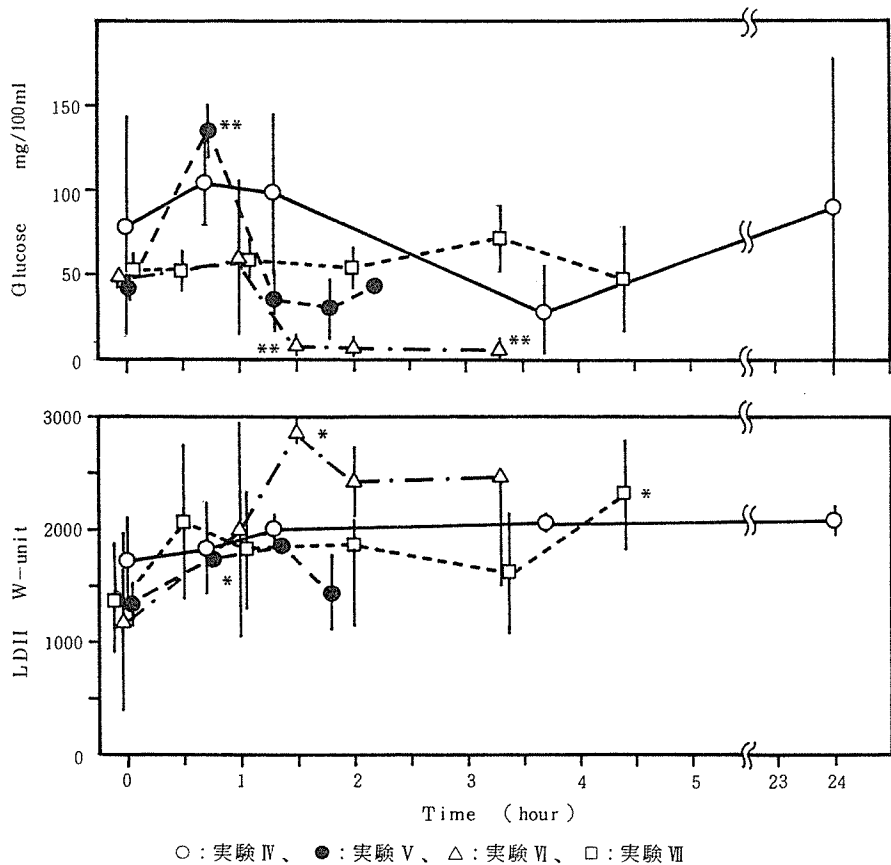


図 4-2-5 溶存酸素低下・水温上昇時の血漿グルコース量 (Glucose)、
乳酸脱水素酵素 (LDH) の変化

実験IVは、3.7時間まで増加傾向にあった。実験VIIは、開始後4.4時間まで同様な傾向にあった。

統計学的には、実験IVが1.3時間、3.7時間で、実験Vが0.7時間から1.8時間まで、実験VIが1.0時間から2.0時間まで、実験VIIが2.0時間でそれぞれ有意差を示した (図4-2-4、中)。

4-2-3-7 平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)

実験VIは、開始後低下していったが、他の区はあまり変化がなかった。実験VIIは、変化していなかった。統計学的には、実験VIIが2.0時間で有意差を示したのみであった (図4-2-4、下)。

4-2-3-8 グルコース量 (Glucose)

実験IVは、0.7時間後に若干増加し、実験V、実験VIは、0.7時間、1.0時間で増加した。特に実験Vの増加は著しかった。その後、いずれの区も低下していったが、実験Vと実験VIの低下が著しかった。実験IVは、3.7時間まで低下していたが、その後23.7時間では開始前の値になっていた。実験VIIは、開始前の値と比べて変化がなかった。

統計学的には、実験Vが0.7時間、実験VIが1.5時間と3.3時間後にそれぞれ有意差を示した (図4-2-5、上)。

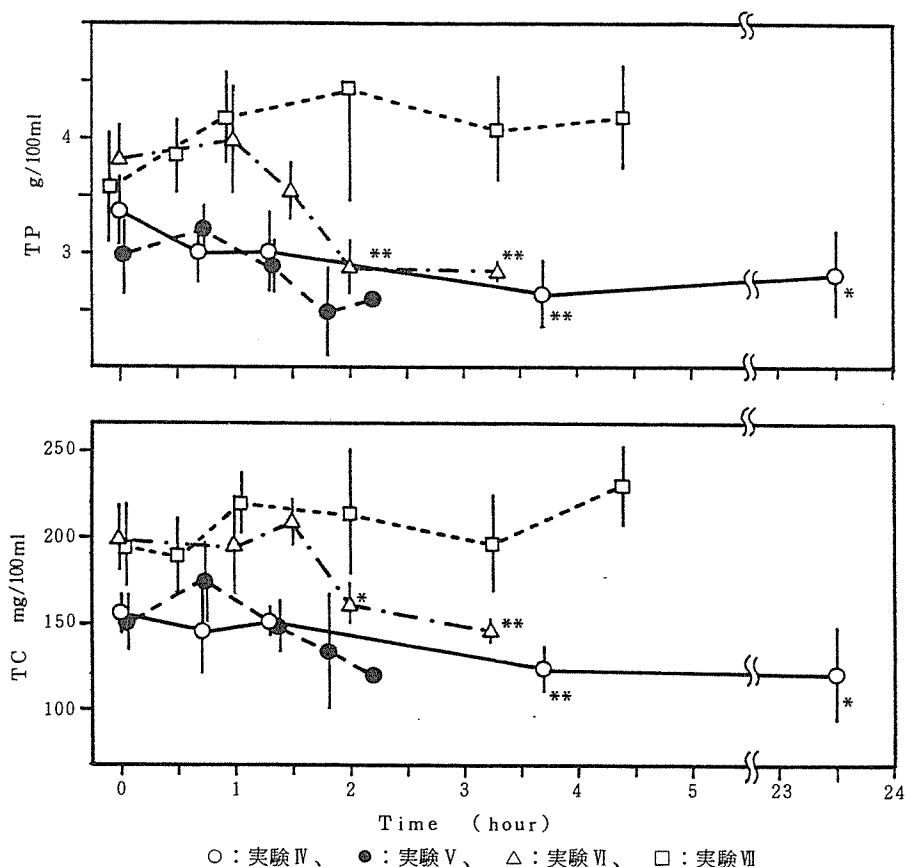


図4-2-6 溶存酸素低下・水温上昇時の血漿タンパク量 (TP)、
総コレステロール量 (TC) の変化

4-2-3-9 乳酸脱水素酵素 (LDH)

実験V、実験VIは、1.8時間、1.5時間後に高い値を示し、実験IVは、23.7時間までわずかな増加を示した。実験VIIも増加の傾向を示した。

統計学的には、実験Vが0.7時間に、実験VIは1.5時間、実験VIIが4.4時間後にそれぞれ有意差を示した(図4-2-5、下)。

4-2-3-10 総タンパク量 (TP)

実験V、実験VIは同様な傾向を示し、1.0時間後まで増加しその後低下していった。実験IVは、3.7時間後まで徐々に低下していった。実験VIIは、0.5時間で若干低下したが、全体的に増加の傾向を示した。

統計学的には、実験IVが3.7時間、23.7時間で、実験VIが2.0時間、3.3時間で有意差を示した(図4-2-6、上)。

4-2-3-11 総コレステロール (TC)

蛋白量の変化と同様で、実験V、実験VIは、0.7時間、1.5時間で高い値、実験IVは、23.7時間後まで低下していた。実験VIIは、低下よりむしろ全体的に増加していった。

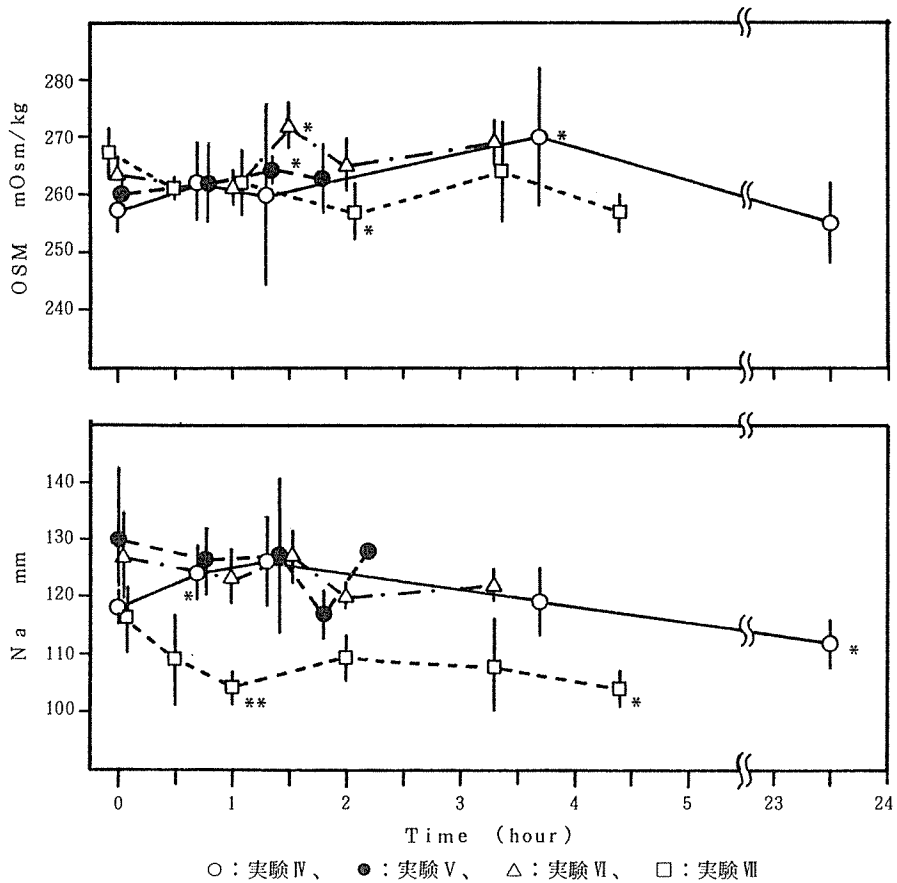


図4-2-7 溶存酸素低下・水温上昇時の血漿浸透圧 (OSM)、
血漿ナトリウム量 (Na) の変化

統計学的には、実験IVが3.7時間、23.7時間、実験VIが2.0時間、3.3時間後で有意差を示した (図4-2-6、下)。

4-2-3-12 浸透圧 (OSM)

実験前後の差はあまり明確でないが、実験IVと実験Vは、3.7時間、1.3時間まで増加傾向にあった。また実験VIも1.5時間等で高い値を示した。実験VIIは、開始前と比べて低下していった。

統計学的には、実験IVが3.7時間、実験Vが1.8時間、実験VIが1.5時間、実験VIIが2.0時間で有意差を示した (図4-2-7、上)。

4-2-3-13 ナトリウム量 (Na)

実験IVは、開始後増加していったのに対して実験V、実験VIは、低下していた。しかし実験IVは1.3時間後に低下していた。実験VIIは1.0時間まで低下していた。

統計学的には、実験IVが0.7時間、23.7時間、実験VIIが1.0時間、4.4時間で有意差を示した (図4-2-7、下)。

4-2-3-14 カルシウム量 (Ca)

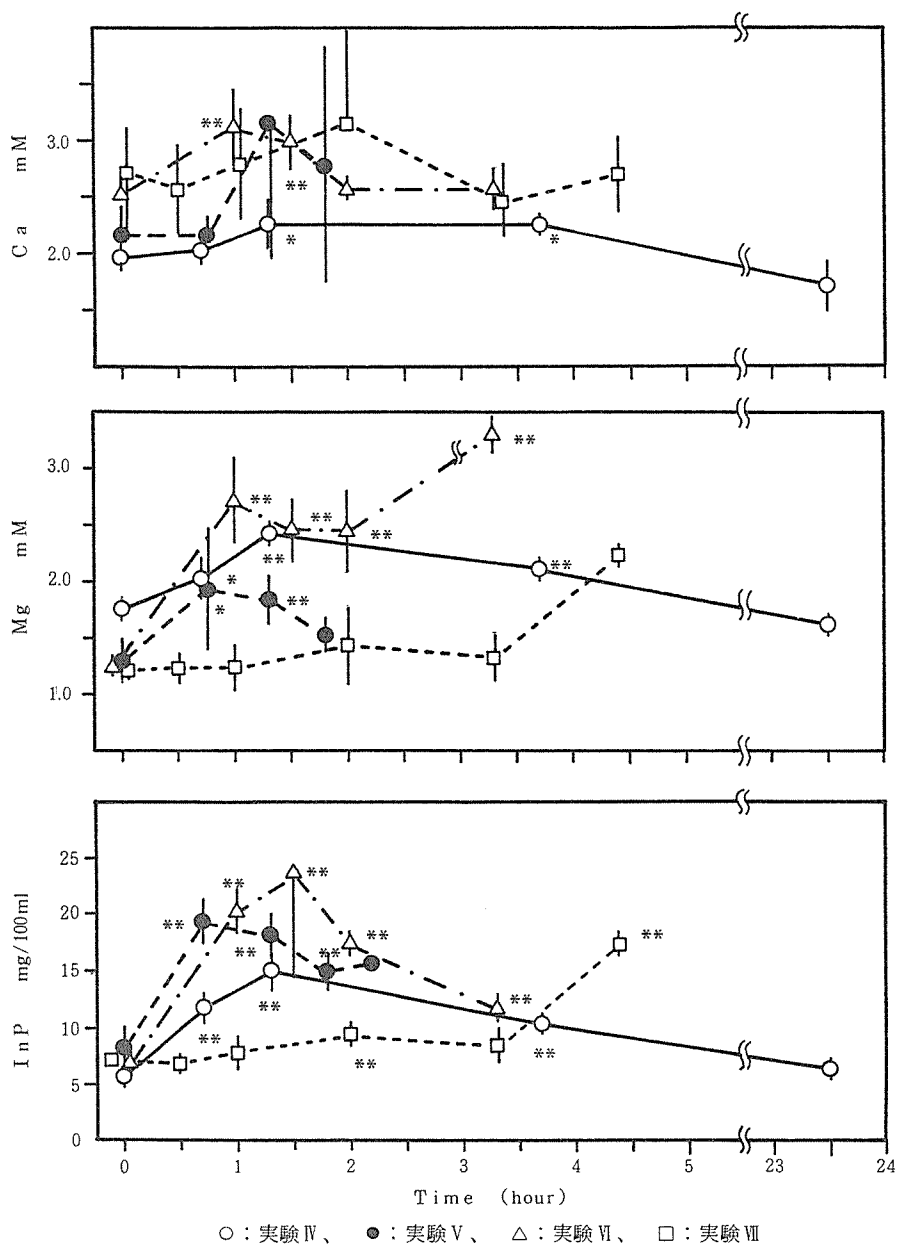


図4-2-8 溶存酸素低下・水温上昇時の血漿カルシウム量 (Ca) マグネシウム量 (Mg)、無機リン量 (Inp) の変化

実験IVは、開始後3.7時間までわずかに増加する傾向があった。実験V、実験VIは、1.3時間、1.0時間後に高い値を示しその後減少していった。実験VIIは、2.0時間後に高い値を示したが、その後減少していった。

統計学的には、実験IVが1.3時間、3.7時間、実験VIが1.0時間、1.5時間後にそれぞれ有意差を示した

(図4-2-8、上)。

4-2-3-15 マグネシウム量 (Mg)

カルシウム量より顕著な変化を示し、実験Ⅳ、実験Ⅴ、実験Ⅵでは、1.3時間以内に高い値を示し、その後実験Ⅵを除く他の実験区は減少していった。実験Ⅵは、2.0時間後からまた増加していった。実験Ⅶは、変化は少なかったが、3.3時間から4.4時間後に増加していた。

統計学的には、実験Ⅳが0.7時間から3.7時間の間、実験Ⅴが0.7時間と1.3時間、実験Ⅵが全ての時間で有意差を示した(図4-2-8、中)。

4-2-3-16 無機リン量 (InP)

マグネシウム量と同様な変化を示し、実験Ⅳ、実験Ⅴ、実験Ⅵとも開始初期の1.3時間、0.7時間、1.5時間で最も高い値を示した。その後、各区とも減少していった。実験Ⅶは、2.0時間まで増加し、その後減少、そして4.4時間後に再び増加していった。

統計学的には、実験Ⅳ、実験Ⅴ、実験Ⅵが実験Ⅳの23.7時間を除く全ての時間で有意差を示し、実験Ⅶは、2.0時間、4.4時間で有意差を示した(図4-2-8、下)。

4-2-4 考察

今回、夏場に頻発する魚の死亡事故原因究明のために溶存酸素と水温の条件を変え、これらの要因が魚体にどの程度のストレスを与えるのかを生理学的観点から検討した。ちなみに高、低水温に順化した魚の酸素欠乏時あるいは水温変化時の生理学的影響について検討した報告^{1~3)}は多いが、双方が急激に変化した時の影響を見た報告は少ないようである⁴⁾。

そこでここでは、溶存酸素低下と同時に水温を上昇させ、生理学的変動の過程を明らかにするために検討したのであった。

4-1では、水温を約20℃に定め、溶存酸素量の低下の速度を変えて検討した。その結果、鼻上げ行動は、急激な溶存酸素低下時に出現し、その時のDO量は0.5mg/l前後の低い値であった。生理学的には、初期反応として赤血球の膨脹、一過性の赤血球数の増加等により酸素欠乏状態をのりきろうとしている。また血漿成分ではグルコース量が増加、その後に減少し、活動状態と低酸素でのエネルギー産出の系と関連した変化が出現したものと思われた。

このようにコイの場合、低酸素状態に耐忍性があり低下速度が急激で、低い値になっても死に至らない機構をもっているものと思われる。また他の報告では、致死濃度が0.3mg/l以下とされているが、前回、鼻上げ行動を示す個体は出現したが、横転魚、死亡魚が出なかったことは、DO量の低下速度、量の他にそれを誘発する他の要因が存在すると思われた。今回その要因の一つとして水温について検討したのである。

その結果、行動観察を、DO量の低下速度が同じで、水温上昇の割合が異なる実験Ⅳ、実験Ⅵ、また双方の変化速度が速い実験Ⅴ、水温だけを変化させた実験ⅦのそれぞれのDO量と水温との関係のみみると、鼻上げ行動は、実験Ⅳと実験Ⅵは0.9時間から1.0時間後に出現し、その時のDO量が0.8から0.4mg/l、水温の増加は、1℃から3℃であった。一方、実験Ⅴは0.7時間後、DO量が0.4mg/l、水温の増加は6℃であった。これらから酸欠時の初期反応として鼻上げ行動は、水温の増加割合にあまり関係なく0.5mg/l前後で出現するように思われる。これは前回の水温が一定でDO量の低下速度が異なる場合でも同様な値を示し、低下速度と関係なく0.5mg/l前後のレベルになれば呼吸困難な症状を示す。

つぎに鼻上げから死亡魚の出現までの関係を見ると、0.5mg/ lの低酸素状態が続く中で、実験Ⅳは4.2時間後に横転魚が出現したが死亡魚はなく、その時の水温の増加は7.6℃、実験Ⅵは2.1時間後に死亡魚が出現し、水温の増加は10℃、実験Ⅴは1.5時間後で、水温の増加は約10℃であった。水温だけを変化させた実験Ⅶの場合、それは15.2℃と高い値であった。これから死亡魚が出現するかしらないかは、水温の増加割合に規定されるものと思われる。その時の水温の増加割合は10℃で、増加速度が速いほど短期的に死に至る。

これらを血液性状でみると、実験Ⅳ、実験Ⅵ、実験Ⅴは、ヘモグロビン量の低下、ヘマトクリット値の増加、赤血球数はあまり変化しなかった。この中でヘマトクリット値は、1時間以内で増加し、その後減少する傾向にあった。また血液指数で平均赤血球容積 (MCV) が高い値を示し、前回でも示唆された赤血球の膨脹を裏付けている。このストレス反応についてSovior⁵⁾は、低酸素、高い乳酸濃度、高い二酸化炭素の時に短期間で起こることを指摘している。平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) の減少、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) の変化なしは、赤血球の膨脹に関係した結果である。

これらの反応は、溶存酸素の急激な低下に対して有効な適応方法であるが、水温の上昇による活動代謝量と酸素要求量の増大に対しては限界を生じついには呼吸不全、死にいたらしめるものと思われた。そしてそれは、実験Ⅳと実験Ⅵでみたように水温の増加割合、速度が関係していると考えられる。また実験Ⅴと実験Ⅵの2時間後の赤血球数の増加は、例数が少ないために何ともいえないが、貯蔵赤血球の動員としてよりも死亡前の変動を示しているともとれる。

血漿成分のグルコースからみると、実験Ⅳ、実験Ⅴ、実験Ⅵは1時間以内の短期間で高い値を示し、その後各区とも減少していった。実験Ⅳは3.7時間まで減少、23.7時間後には増加していた。その他の区は1時間以後、急激に低下し、特に実験Ⅵでは、初期の立ち上がりは低いもののそれ以後10mg/ 100 ml以下にまで低下した。これらのグルコースの変化は、死亡魚が出現しなかった実験Ⅳの場合、前回の急激な酸素低下のみを行った区と同様な傾向を示したのに対して、実験Ⅴと実験Ⅵは、増加以後の急激な低下として特徴づけられる。またこれは死亡魚が出現する原因を糖代謝の面から説明できるかも知れない。

グルコースは、そもそも肝臓や筋肉にグリコーゲンとして貯えられている、低酸素状態の時の主なエネルギー源としてこれらグリコーゲンが利用され、結果として血液中のグルコースレベルが増加することが知られている。またこのグリコーゲン沈着量の大きさが低酸素に対する耐性の範囲を規定すると言われている⁶⁾。今回の初期反応で高値を示したことは、肝臓等から動員されたものであり、その後の低値は、水温の上昇に伴った糖代謝の攪乱を示していると考えられる。

乳酸脱水素酵素 (LDH) は、あまり明確な変化を示さなかった。しかし今回は、実験Ⅵ、実験Ⅴで高い値を示しており、糖代謝との関係、特に肝臓等の部位での攪乱を反映した結果と考える。

総タンパク量と総コレステロールは、相互に似た傾向を示した。すなわち実験Ⅳは、開始初期より低下し、実験Ⅴと実験Ⅵは、0.7時間から1.5時間の間にピークがあり、その後減少した。水温変化のみの実験Ⅶは、実験期間中増加傾向にあった。前回では実験Ⅳと同様に低下していたが、他の区では異なった結果となった。低酸素の時の総タンパク量については、あまり明確になっていない。一方、高水温時のそれは、低下するとする報告^{7,8,9)}があり、初期反応では異なるが、実験Ⅴ、実験Ⅵは後期反応では一致していた。これらから低酸素と水温上昇がそれほど顕著でない場合は減少し、双方の変化が急激な場合は、初期に増加、その後に減少の経過をたどると言える。これはコレステロールも同様である。しか

しこれらの変化が脂質、タンパク代謝とどのような関係にあるのか、また糖代謝でみたように肝機能の攪乱を反映したものかなどについては今後の課題である。

つぎに血漿の無機成分についてみる。

血漿浸透圧 (OSM) は、低酸素と水温上昇の区が増加の傾向にあったが、水温の変化のみの区は、減少傾向にあった。前回では、低下速度が大きいほど高値を示し、低酸素時に増加するという点では今回の結果と一致している。しかし全体的にその変化は明確でない。

ナトリウム量 (Na) は、実験Ⅳが開始初期に増加し、その後減少していった。実験Ⅴと実験Ⅵ、および実験Ⅶは減少した。高温ショックを与えると減少することが報告¹⁰⁾されており、水温増加によるものと思われる。

カルシウム量 (Ca) は、実験開始後に増加する傾向があった。実験Ⅶはあまり明確な変化はなかった。前回との比較は、増加することでは一致してをり、高温ショックの時は変化なし¹⁰⁾であることから、低酸素との関係が強いものとする。

マグネシウム量 (Mg) は、実験Ⅳ、実験Ⅴ、実験Ⅵとも0.7時間から1.5時間の間でピークを示し、その後減少していった。ただし実験Ⅵは3.3時間後で高い値であった。実験Ⅶは、3.3時間まであまり変化なく、4.4時間後には高い値となっていた。前回と比較すると溶存酸素低下速度が急激な区で開始初期で高い値、その後に減少したことと一致していた。しかし実験Ⅵの3.3時間後と水温のみの要因を変化させた実験Ⅶの4.4時間後で高い値を示したことは、水温上昇によるストレス反応が強く作用したものとする。これは先に検討したように初期反応とその後の死に至るまでの経過を示している。ただし双方の変化が急激で短期間の場合はこの経過を示さない。

無機リン量 (InP) は、実験Ⅳ、実験Ⅴ、実験Ⅵが0.7時間から1.5時間の間でピークを示し、その後減少していった。実験Ⅶは3.3時間まで変化ないが4.4時間後には高い値となっていた。これらの変化は実験Ⅵの3.3時間後の値を除けばマグネシウム量の変化と同じであった。前回は今回と同様な結果であった。水温変化だけの実験Ⅶが3.3時間後まで変化なかったことは、これらの変化は水温の要因よりむしろ低酸素の要因が強く作用したものと思われる。

コイは、低酸素状態に対して適応能力が大きく、溶存酸素を急激に変化させた時でも、鼻上げ等の行動を示すが、生存していける能力をもつ。しかし今回のように水温変化が伴った時、その能力に限界を生じ、死亡する。そして死に至るまでの経過は、つぎのようであった。

溶存酸素が急激に低下すると、鰓蓋運動が活発になり、鼻上げ行動が出現する。その時間は低下速度に関係し、0.5mg/l前後になれば呼吸困難症状をしめす。ただし水温の増加は低下速度に関係するが、今回の6℃以内では魚体に対してあまり負荷を与えない。また生理的には短期間で赤血球の膨張等の形態的变化、血漿成分のグルコース、無機リン量、マグネシウム量等が増加する。

つぎに0.5mg/l以下の低酸素の持続は、水温の増加に影響される。その範囲は10℃以上で、ヘマトクリット値、グルコース、無機リン量等の減少を伴い、一般的にいわれている致死濃度の0.3mg/l以上の値で、魚体内の恒常性が乱されて死に至る。この死亡するまでの時間は、初期の低下速度と水温の上昇速度によって決まってくる。

4-2-5 まとめ

野外で発生する酸素欠乏による魚死亡事故の原因究明のために、溶存酸素と水温との関係について生

理的側面から検討を行い、以下の成績を得た。

- (1) 実験装置は前報と同様で、流水式をとった。
- (2) 実験条件は、溶存酸素の低下速度を高めるのと同時に水温の上昇割合を変化させた、実験Ⅳ、実験Ⅴ、実験Ⅵと、また水温だけを変化させた実験Ⅶの4区とした。
- (3) 行動観察では、溶存酸素量が0.5mg/l前後に達する初期時間で、鼻上げ行動が出現する。死亡魚の出現は、0.5mg/l以下の低酸素状態の持続のもとで、水温増加が10℃以上の時に出現する。水温変化だけの区では、15℃の増加の時に出現した。
- (4) 血液性状は、ヘマトクリット値とMCVが初期に高値を示し、その後低下した。ヘモグロビン量、MCHC、MCHは初期より低下していった。
- (5) 血漿成分のグルコースは、初期に高値、その後の低酸素、水温上昇時には、低値を示した。他の総蛋白量、総コレステロールも、死亡魚が出現した区で同様な傾向を示した。また無機リン量、カルシウム量、マグネシウム量も同様であった。
- (6) 浸透圧、ナトリウム量は、あまり変化がなかった。

以上のことから、コイは、短期間で外界の変化に呼応した反応を示し、0.5mg/l前後の値で鼻上げ行動、その後、10℃以上の水温増加で死亡する。魚体内では、呼吸機能の効率化、物質代謝の回転率の上昇等に対応するが、低酸素の持続時、特に水温上昇は、恒常性の攪乱を招く。

文 献

- 1) Hughes, G. M.,: Effect of Low Oxygen and Pollution on the Respiratory System of Fish. In Stress and Fish, (Edited by Pickering A. D.), Academic Press, New York, 121~146 (1981).
- 2) Hughes, G. M., C. Albers, D. Muster, K. H. Gotz: Respiration of the Carp, *Cyprinus carpio* L., at 10 and 20 °C and the Effects of Hypoxia, *J. Fish Biol*, 22, 613~628 (1983).
- 3) Fernandes, M. N., F.T. Rantin: Respiratory Responses of *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) to Environmental Hypoxia under Different Thermal Condition, *J. Fish Biol.*, 35, 509~519 (1989).
- 4) 樋口 文夫: 魚類へい死原因究明のための研究Ⅰ、コイの溶存酸素低下時における血液性状の変化、横浜市公害研究所報、14、149~162 (1991).
- 5) Soivio, A., M. Nikinmaa: The Swelling of Erythrocytes in Relation to the Oxygen Affinity of the Blood of the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson, In Stress and Fish, (Edited by Pickering A. D.), Academic Press, New York, 103~119 (1981).
- 6) Hochachaka, P. W.,: 低酸素適応の生化学、橋本 周久他訳、恒星社厚生閣、東京、113~129 (1985).
- 7) 樋口 文夫、水尾 寛己、畠中 潤一郎、福嶋 悟: 野外飼育におけるコイの血液成分の季節、年齢、性による変化、横浜市公害研究所報、10、101~117 (1985).
- 8) 樋口 文夫: 鶴見川のフナによる水域環境評価の研究、亜種別、性別、季節別の形態、血液、血清成分について、横浜市公害研究所報、11、111~132 (1986).
- 9) 石岡 宏子: 海産魚のストレス反応に関する研究Ⅰ、温度変化によるストレス反応、*Bull.*

Japan. Soc. Sci. Fish., 46, 523~531 (1980).

- 10) Hille, S.,: A literature Review of the Blood Chemistry of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Rich., *J. Fish Biol.*, 20, 535~569 (1982).

4-3 河川の溶存酸素欠乏に関わる魚類の生理生態的特徴と汚濁物質

4-3-1 はじめに

今まで溶存酸素の低下および水温の増加等の変化が、魚類にどの様に影響を及ぼすのかについて室内実験の研究結果から検討してきた。そこで、ここでは実際に河川に生息する魚類の生理学的変動の特徴と酸素欠乏等に係わる他の汚濁物質の問題点について筆者らの調査報告を基にまとめてみた。

4-3-2 鶴見川に生息するフナ類の生理生態¹⁾

(1) 調査方法

調査時期は、1983年2月から1985年2月まで年4回の頻度で行った。調査地点は、鶴見川の上流に位置する水車橋、中流の亀の子橋、下流の大綱橋の3地点であった。

対象魚種は、フナ類で、検査尾数は117尾（体長の平均値が128.4mm、最小値が51mm、最大値が245mm）で、採集方法は投網とタモ網を併用した。

検査方法は、現場で採血し、ただちに研究室に持ち帰り所定の分析を行った。検査項目は、血液性状と血清成分、魚体は、形態計測を行い、その後各種臓器重量を測定した。なお、同じ鶴見川で地点を増やして同時期に分布調査等を行った。

(2) フナ類の亜種別の血液成分

鶴見川のフナ類は、形態計測値、赤血球の長径等から分類すると、キンブナ、ギンブナの2亜種が生息し、また生息数からみればギンブナが最も多く、そして分布範囲も広い。これらのフナ類の性を精査するとギンブナの多くは雌であり、染色体数が3倍体で、キンブナは雄、雌が存在し、2倍体であった。しかしなかには形態計測値から判断するとギンブナであるが、2倍体の雄が存在する場合もあった。

これらのことから亜種別の血液性状値等の比較検討を行った結果、倍数性に関連した赤血球数、MCVを除く他の項目では有意差がなかった。そのため先の2項目を除けばフナ類として両亜種をまとめて検討してもさしつかえないものと考えた。

(3) 血液成分の季節変化

フナ類の血液性状と血清成分は、一定の季節変化を示す項目が多かった。河川に生息する魚類、特に成熟魚は生殖サイクルが重要で、体成長とともに季節変化の主要な要因になっていると思われる。

ここで血液成分の変化パターンを要約してみる。

A) 春から夏にかけてピークがある一峰性の変化

ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、グルコース量 (Glucose)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、浸透圧 (OSM)

B) 冬あるいは春にピークがある一峰性の変化

カルシウム量 (Ca)

C) 春と秋にピークがある二峰性の変化

総タンパク量 (TP)、総コレステロール (TC)

D) 変化が不定

平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、ナトリウム量 (Na)、クロライド量 (Cl)

性別では、雄の尾数は少なかったが、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、グルコース量 (Glucose)、総コレステロール (TC)、カルシウム量 (Ca) が雌雄間で差を生じた。

以上の変化パターンと形態の季節変化とを対応させて生理生態的観点から周年変化を推定する。

冬：静止、貯蔵期 → 春：成長、繁殖期 → 夏：活動、疲弊期 → 秋：回復期

これらの期間中、外部環境の急激な変化に対して鋭敏に反応する時期は夏の活動、疲弊期と思われる。すなわち産卵後の疲弊、水温上昇による活動度の亢進等が酸素欠乏時などの突発的な変化に対して相乗的に過度のストレスとなって現れやすい。夏に酸素欠乏による死亡事故が多いのは、環境要因だけでなくに河川に生息する魚類の生理生態的特徴を考慮して考える必要がある。

また体内の各物質代謝系の働きが活発になる成長、繁殖期の春もまた夏とは異なる場面で攪乱され易い時期と推測される。同時期、病魚の発生等との関係は、今後検討すべき課題である。

4-3-3 亜硝酸態窒素 (NO₂-N)

(1) 調査方法

4-3-2の項と同様である。

ただし検査項目は、Van Assendeleft法²⁾によるメトヘモグロビンを加えた。また同時期に鶴見川の魚類相調査と水質検査を落合橋、千代橋、都橋を加えて、計6地点で行っている。

(2) メトヘモグロビン量

メトヘモグロビンは、正常赤血球内に存在するが、高濃度の亜硝酸態窒素 (NO₂-N) が含まれる水に暴露されるとヘモグロビンが酸化されてメトヘモグロビンの量が増加する。その結果、ヘモグロビンの本来の役割である酸素運搬能等が低下し、さらに進行すると窒息状態となっていく。

このNO₂-Nの毒性は、魚種によって変わりキャットフィッシュ、ティラピアのLC₅₀96時間値が、それぞれ7.1mg/l、16.2mg/lであった。また1.5mg/lの比較的低い濃度でもメトヘモグロビンが10~20%の値になる³⁾。USEPA⁴⁾は、長期的にみた時の許容濃度を0.1mg/lとしている。これから鶴見川を例に、実際にどのくらいの濃度レベルに生息しているのかをみたのが図4-3-1である。ナマズ、メダカ以外の魚種は、0.5mg/l以下の濃度で生息している。先の許容濃度レベル0.2mg/l以下に生息している魚種は、アブラハヤ、ホトケドジョウの2種だけで、フナ類は、0.4mg/lで、範囲は最小値が0.04mg/l、最大値が1.04mg/lであった。

実際に河川に生息するフナ類のメトヘモグロビン量は、春が7.7%、夏が18.8%、冬が7.3%で夏の方が冬より約2.5倍ほど高い値を示した。ただし室内飼育は6.0%の値を得ている¹⁾。

これらから鶴見川を例にみると急性影響が出るほど高濃度ではないが、慢性的には魚類に影響をおよぼすことも考えられる。またメトヘモグロビン量が夏で比較的高かったことは、酸素欠乏時、水温上昇とともにNO₂-Nの存在が魚類の呼吸機能をより低下させる因子になり得ると考える。

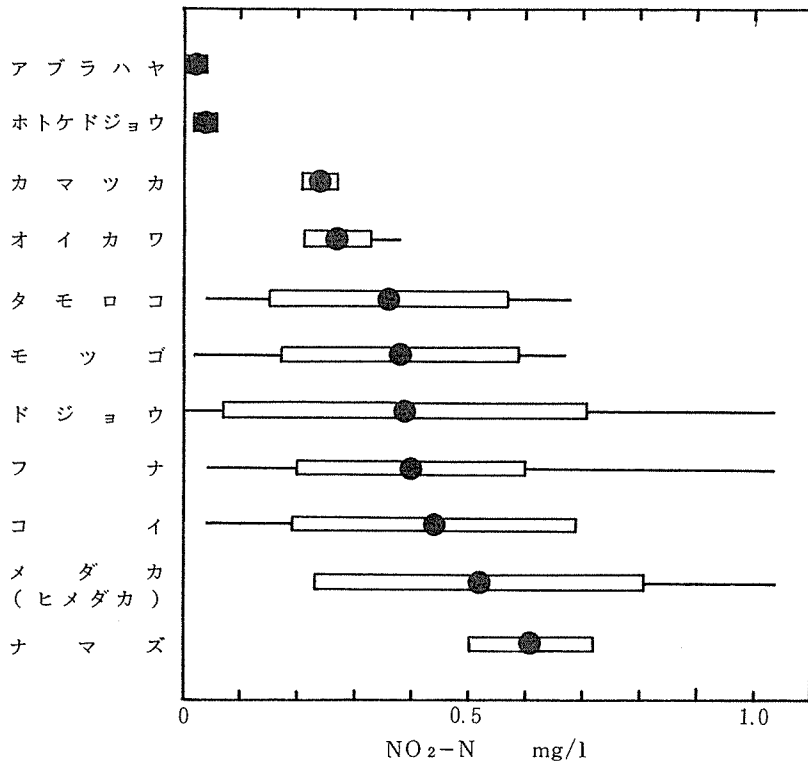


図4-3-1 NO₂-Nと魚種別出現範囲 (鶴見川水系)

4-3-4 アンモニア態窒素 (NH₄-N)⁵⁾

(1) 調査方法

実験は室内で急性試験、亜急性試験を行った。供試魚はコイを用い、その体長は60.0±7.4mm、体重は5.9±1.9g、肥満度は26.9±2.6であった。濃度の設定はNH₄Clで調整した。NH₄-Nでその段階をみると、急性試験の濃度段階は1.2±1.1、39.8±1.8、64.8±5.8、83.2±6.7、111.3±3.8 (mg/l) の5段階、この時の水温はどの区も19.2℃、pHは7.4であった。亜急性試験は、1.9±1.8、15.9±2.6、29.2±2.9、41.5±3.2 (mg/l) の4段階、水温はどの区も18.5℃、pHが7.4であった。先の調査報告から鶴見川を例にNH₄-Nと魚種別出現範囲を示した。

(2) 毒性影響

アンモニアは、魚類に強い有害作用を与える。特に非イオンのアンモニア (NH₃) は水温、pHの変化によって発生する割合が異なる。水温が高くpHが高ければ非イオンのアンモニアが高率となり、毒性が強くなる。

室内試験の結果は、急性影響は、39.8mg/l濃度以上の段階で出現し、血液性状のヘモグロビン量、ヘマトクリット値が低下し貧血症状を示し、総タンパク量も低下していた。亜急性影響は、29.2mg/l濃度以上になると、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球ヘモグロビン濃度、平均赤血球ヘモグロビン量等が低い値を示し、低色素性小球性の貧血症状を示した。以上のことから亜急性的にアンモニアが血液成分に影響をおよぼす濃度はNH₄-Nで29mg/lで、これを非イオン性のアンモニア

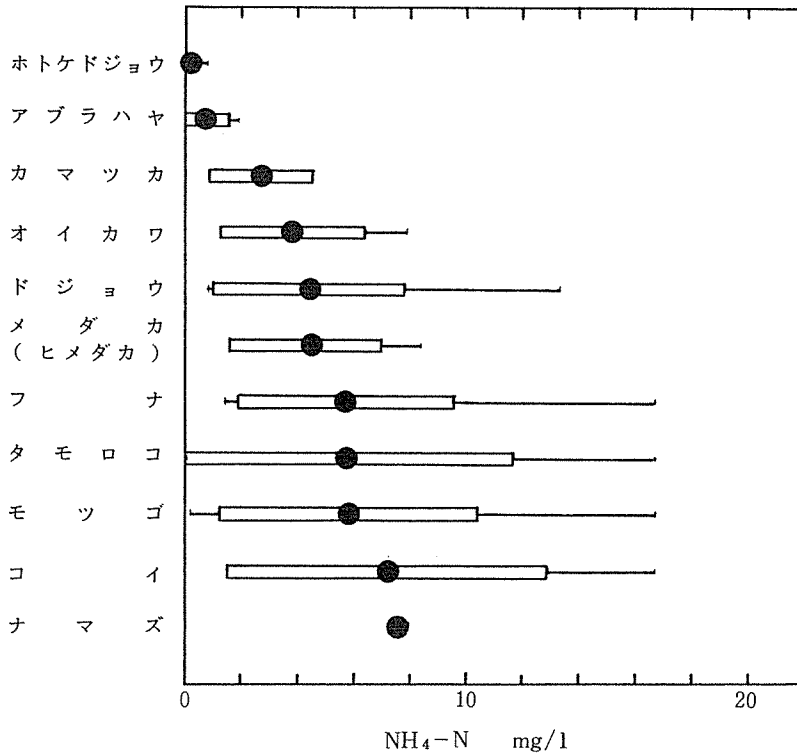


図 4-3-2 NH₄-Nと魚種別出現範囲 (鶴見川水系)

(NH₃) に換算すると0.35mg/lであった。死に至る濃度は50.9mg/l、非イオン性のアンモニア (NH₃) で0.61mg/lであった。これらのコイの組織学的所見は、高濃度区で二次鰓弁上皮の浮腫、毛細管からの出血等が認められた。

他の文献^{6,7)}では、同じコイでNH₄-Nが13.5mg/l、NH₃が0.08mg/lでヘモグロビン量、ヘマトクリット値が増加するとしており、筆者らに比べて異なる結果であった。低濃度では異なる症状を示すのかも知れない。

USEPA⁴⁾は、NH₃の長期的な許容濃度を0.02mg/lとしている。

ここで鶴見川を例にNH₄-Nと魚種別の生息範囲を図4-3-2に示した。

生息範囲の平均は、いずれの魚種もNH₄-Nが10mg/l以下であったが、ナマズ、コイ、フナ類、モツゴ、タモロコは、5~10mg/lの比較的高い濃度に出現していた。また生息範囲の多くは影響を受ける濃度以下ではあるが、例えばフナ類等は、最大値で16.7mg/lの高い濃度を示すときがあり、水温、pHの条件によっては毒性影響を受ける可能性がある。

これらのことからNH₄-Nは、長期的にみた時、呼吸器の障害等の酸素欠乏に係わる問題をはらんでいる。

文 献

- 樋口 文夫：鶴見川のフナによる水域環境評価の研究、亜種別、性別、季節別の形態、血液、血

- 清成分について、横浜市公害研究所報、11、111～132 (1986) .
- 2) 松原 高寛：臨床検査技術全書Ⅲ、血液検査、三輪 史郎編、医学書院、47～49 (1979) .
 - 3) Palachek, P. M., J. R. Tomasso : Toxicity of Nitrite to Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*), Tilapia (*Tilapia aurea*), and Large Mouth Bass (*Micropterus salmoides*) ; Evidence for a Nitrite Exclusion Mechanism, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41, 1739～1744 (1984) .
 - 4) USEPA : Water Quality Criteria 1972, EPA. R3. 73. 033 (1973) .
 - 5) 樋口 文夫：魚類の血液検査による健康状態評価手法の基礎的研究、魚類指標による工場排水規制手法に関する研究報告書、公害研資料、69、168～174 (1986) .
 - 6) 尾崎 久雄、池田 弥生：飼育水のアンモニア蓄積によるコイ血液成分への影響、昭和58年度魚病対策技術開発研究成果報告書、日本水産資源保護協会、12～15 (1984) .
 - 7) 山形 陽一、丹羽 誠：日本ウナギに対するアンモニアの急性および慢性毒性、日水誌、48、171～176 (1982) .