

5 酸素欠乏等の魚への形態学的影響

水 尾 寛 己

5-1 溶存酸素低下時のコイの形態学的反応

5-1-1 はじめに

水中に生息している魚類などの多くの動物たちは、水中に溶存している酸素を利用して呼吸している。これらの動物たちは、種類により生息場所が異なっており、必要とする酸素要求量も異なり、種類により低酸素に耐性の強いものや弱いものなど様々である¹⁾。その場合、水中動物の多くは鰓を通して呼吸を行っている。酸素量と鰓形態については、すでに、横浜市の魚類を指標とした工場排水の規制手法に関する研究のなかで、コイを指標に検討してきたところである^{2~5)}。

コイは、淡水魚の中で酸素欠乏には比較的耐性のある魚種として知られているが、酸素欠乏が主な原因で死亡した事例もかなり見られ、事故原因が酸素欠乏によるかどうか判断する指標として、特に鰓形態の観察が有効と思われたので報告する。

5-1-2 検討項目

- (1) 酸素欠乏条件は、過密飼育による方法、窒素ガスで水中の酸素を飛ばす方法、空気中に魚を放置する方法により行い、酸素欠乏に伴う鰓を中心とした形態の変化の比較。
- (2) 酸素量及び飼育水温の違いと鰓形態との関係。

5-1-3 検討方法

(1) 検討項目1の実験条件

過密飼育による酸素欠乏条件は、10lの脱塩素水の入ったビニール袋に10gのコイを10尾入れ密封する方法によった。窒素ガスで酸素を飛ばす方法による酸素欠乏条件は20l硬質ガラス水槽に体重7gのコイ5尾を入れ、窒素ガスを通気する方法を用いた。

鰓形態の観察方法は図5-1-1に示すフローに従い、観察した。

(2) 検討項目2の実験条件

体重6~11gの0年魚のコイを使用し、飼育水温6~10℃(DO=9から10.5mg/l)、14℃(DO=9.0mg/l)、23℃(DO=7.0mg/l)、28℃(DO=6.8mg/l)に1カ月以上流水飼育した魚の鰓形態について各8尾ずつ比較した。次に飼育水温6℃(DO=10.4mg/l)、14℃(DO=9.0mg/l)、20℃(DO=6.8mg/l)それぞれの区をビニール袋で密封する方法で酸欠状態にし、その時の魚の鰓形態について各6尾ずつ調べた。観察方法については、先の酸素欠乏条件時と同様な方法を用いた。

5-1-4 検討結果

5-1-4-1 酸素欠乏に伴う鰓を中心とした形態の変化

(1) 遊泳行動

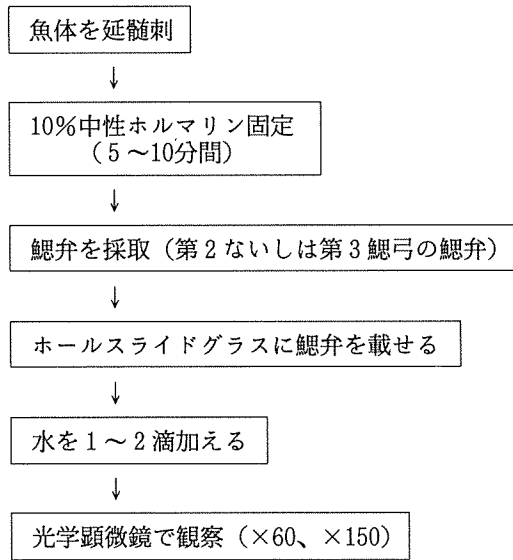


図5-1-1 鰓の観察方法

酸素欠乏時の特徴としては、遊泳行動において鼻上げ症状が群泳で見られることであり、死亡した場合にほとんどの個体は、水面に浮上した状態を示す。

(2) 外部形態及び内部形態

形態の特徴一つとしては、個体の多くは体色が暗化することである。体色の暗化はメラノフォア（黒色色素）が体表に多く移動してくることにより起こるものであるが、薬物によっても種類により同様な現象が観察できるので酸欠特有の現象ではない。

形態の特徴の二つめとしては、酸欠により死亡した場合に口を開放した状態を示すことである。死亡の主な原因が窒息の場合の特徴的な症状と思われる。また、酸欠死においては、死亡時に外部形態において充出血の症状は見られないが、死後数時間経つと鰓蓋に充出血が見られる場合が多い。

内部形態においては、肉眼観察からは特に際だった異常は見られないのが特徴である。

(3) 鰓の形態

酸素欠乏時の鰓は、肉眼観察からは、鰓の色は鮮紅色で特に異常は見られない。光学顕微鏡でさらに詳細に鰓を観察すると、写真5-1-1のように、通常時の鰓と比較して鰓弁上皮、二次鰓弁上皮は収縮しており、二次鰓弁が規則的に配列しており、この形態像は窒息時における特徴と考える。この形態は写真5-1-2(1)に示すように死後1~2時間維持しており、その後時間とともに浮腫を起し、十数時間で壊死崩壊してしまう。

壊死崩壊状態の鰓を顕微鏡で観察しても、鰓が白濁していて光の透過力は悪く、写真5-1-2(2)に示すように観察しにくい。そこで、この鰓を洗浄水で洗浄すると鰓弁、二次鰓弁の上皮は容易に剥がれ、鰓の二次鰓弁の配列が規則的に配列されているのが観察できる^{6,7)}。

これらの特徴について、表5-1-1に示した。また、次に述べる薬剤では、死後数時間から十数時間経過すると、鰓弁、二次鰓弁は壊死崩壊してしまい、酸素欠乏による死亡と区別が可能である。

表 5-1-1 酸素欠乏時の鰓形態の特徴

	瀕死・死亡時の鰓	死後 2～3 時間後の鰓	死後 4～14 時間後の鰓
鰓の色	鮮紅色	紅色	淡紅色
鰓弁上皮	収縮	拡張(浮腫)	壊死
小出鰓動脈	うっ滞	—	—
二次鰓弁上皮	収縮	拡張(浮腫)	壊死
二次鰓弁	伸長	伸長	伸長
二次鰓弁の出血	なし	—	—
二次鰓弁の並び方	規則的	規則的	規則的

※ 試験水温 25℃、試験に使用した魚：群馬水産試験場から購入し、蓄用していた 1 年魚
 — 特徴の把握ができないことを示す

5-1-4-2 酸素量及び飼育水温の違いと鰓形態との関係^{4,5)}

酸素量及び飼育水温の違いからくる鰓形態の特徴については、肉眼観察では差を把握することは困難であるが、図 5-1-1 に示す光学顕微鏡観察による方法により把握することができた。写真 5-1-3(1)に、6℃、14℃飼育時および 14℃飼育魚を酸欠状態にした場合の鰓の実体観察像及び組織像を示した。また、写真 5-1-3(2)に、6℃、14℃、23℃飼育時及び 23℃飼育魚を酸欠にした場合の鰓の走査電子顕微鏡像を示した。写真 5-1-3(1)、(2)から、鰓の形態が酸素量及び飼育水温の違いにより変化することが明らかであり、生理的な面と密接な関係があると考えられる。

飼育水温および溶存酸素量の違いと鰓の形態との関係模式図を、図 5-1-2 に示した。この模式図に示した鰓形態は、直接光学顕微鏡で観察した場合に見られるもので、観察も容易であることから、毒物による影響や感染症等の場合との違いの知見を多く収集することにより、酸素欠乏の影響診断の指標となりうると考える。

5-2 数種の薬剤のコイの鰓形態等への影響⁸⁾

5-2-1 はじめに

先の魚の死亡状況で述べられたように横浜市内河川においては、酸素欠乏による事故が比較的多いと思われるが、後に述べる事故事例でふれるが、明らかに薬剤による事故も少なくない。魚から薬剤の事故を推定するためには、それぞれの薬剤の作用が魚にどのような変化をもたらすかの基礎データの収集が必要である。狩谷⁹⁾はアカヒレを指標に薬剤との関係を明らかにしている。加藤らは¹⁰⁾フナ、ニジマス等を用いて薬剤等による死亡魚の特徴的症狀をまとめているが、現実の死因判定の活用については、魚種や健康状態や個体差、死後変化などの問題点に留意する必要性を述べている。

ここでは、特に、薬剤のコイの鰓形態への影響について検討した。薬剤の鰓形態への影響に関しては、多く研究されてきている^{11~18)}。薬剤の鰓形態への影響についての検討は、鰓が呼吸をおこなう上で重要な部位であるとともに、直接に水と接触し薬剤の影響を受けやすいことから有効と考えられる。

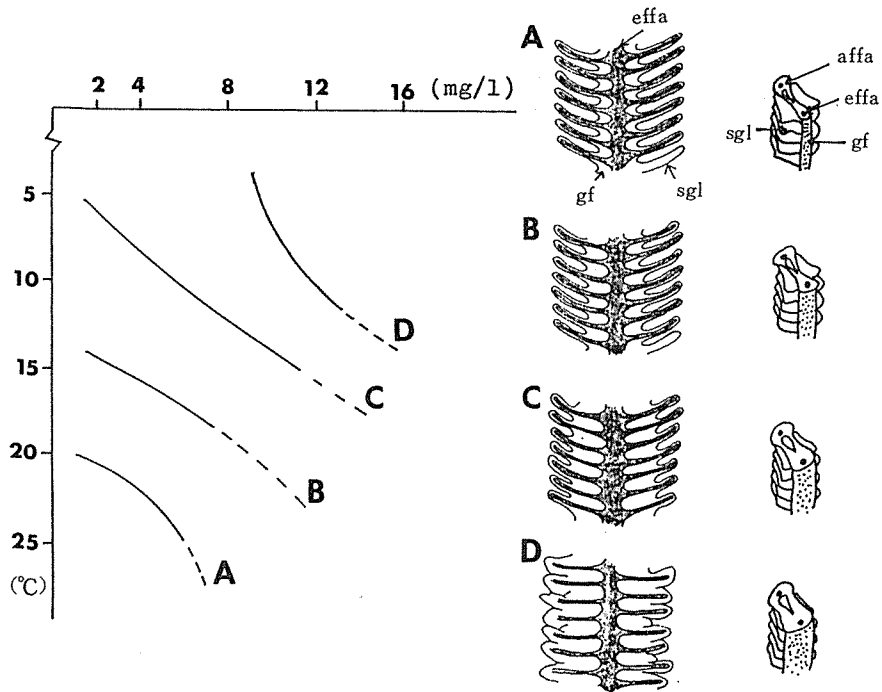


図5-1-2 水温、酸素量と鰓形態との関係模式図

gf ; 一次鰓弁 (gill filament) sgl ; 二次鰓弁 (Secondary gill lamella)
 effa ; 小出鰓動脈 (efferent filament artery) affa ; 小入鰓動脈 (afferent filament artery)
 A, B, C, D ; 図中の A, B, C, D 曲線は鰓模式図 A, B, C, D と対応する関係を示す。

5-2-2 実験条件

供試魚は、群馬水産試験場から1988年7月に購入し、3カ月間蓄養した体重約7gの0年魚のコイを用いた。試験容器は、20lのガラス水槽を用い、試験水温は25°Cで、尾数は各5尾とした。試験に使用した薬剤は下記の通りである。

Zn (ZnSO ₄)	10, 40	mg/l
Cu (CuSO ₄)	1, 10	mg/l
CN ⁻ (KCN)	0.25, 10	mg/l
Cl ₂	0.5, 4	mg/l
NH ₄ OH (pH7)	450	mg/l
pH 11 (NaOH)		
pH 3 (HCl)		

これらの薬剤に暴露された瀕死魚及び死亡魚の瀕死時、死亡時の鰓形態の光学顕微鏡観察は、先の酸素欠乏時と同様な方法で行った。

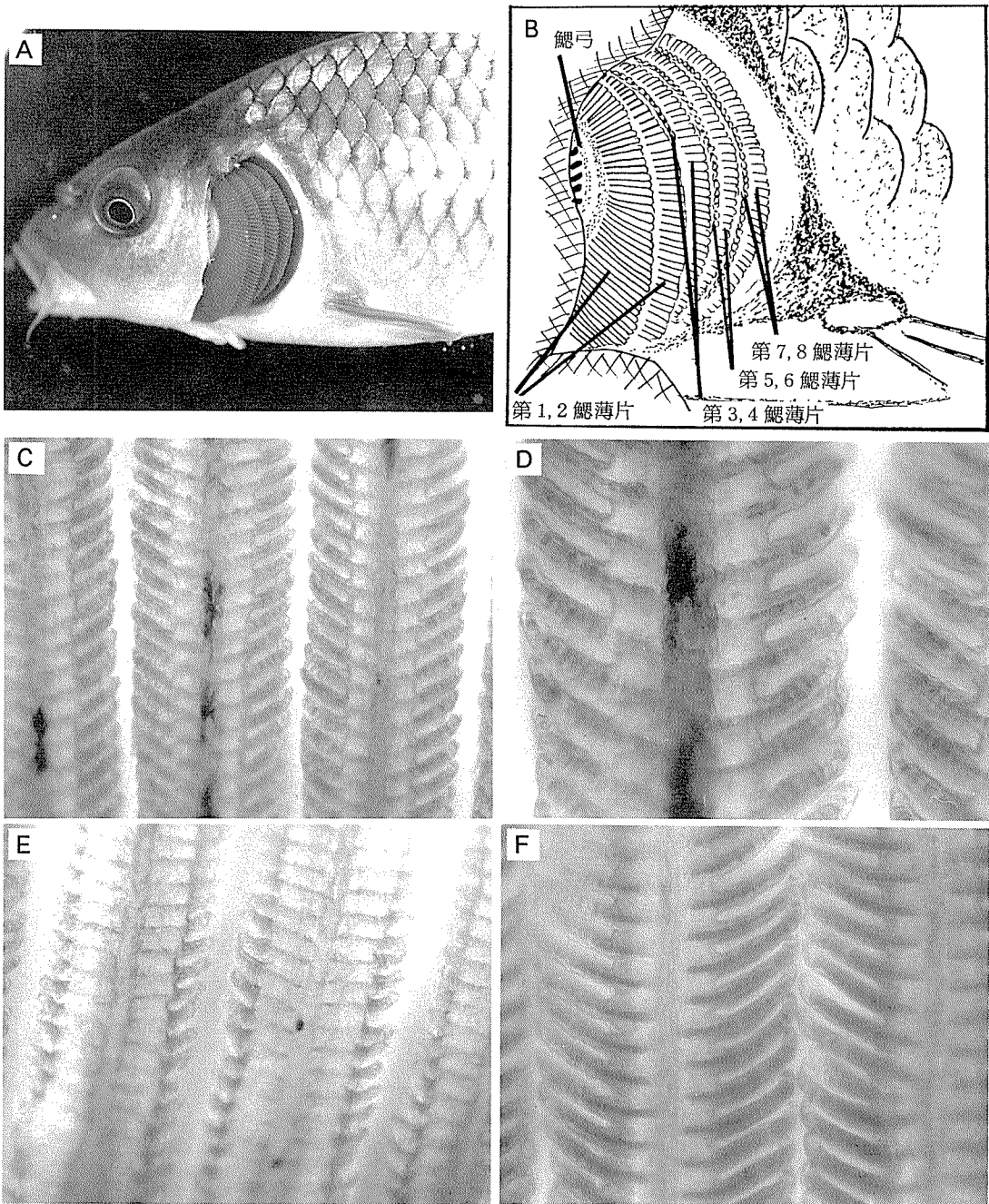


写真5-1-1 鰓の光学顕微鏡像

(A); コイの鰓

(C); 通常の鰓

(E); 低水温、過酸素及び絶食時の鰓

(B); コイの鰓の模式図

(D); 通常の鰓(拡大)

(F); 高水温、低酸素時の鰓

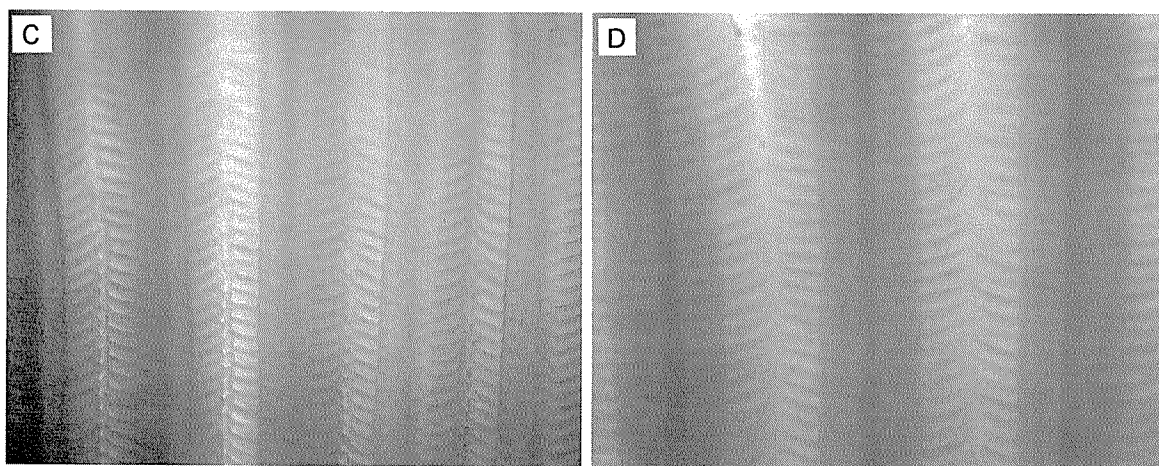
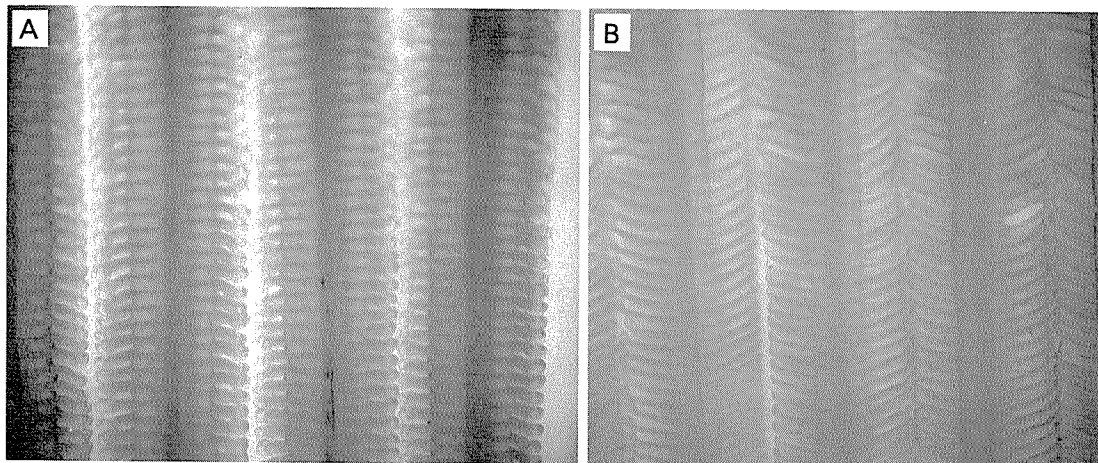


写真 5 - 1 - 2 (1) 酸素欠乏時の鰓の形態像

(A); コントロール
(C); 死後 30 分～1 時間

(B); 酸欠死亡時
(D); 死後 3 時間

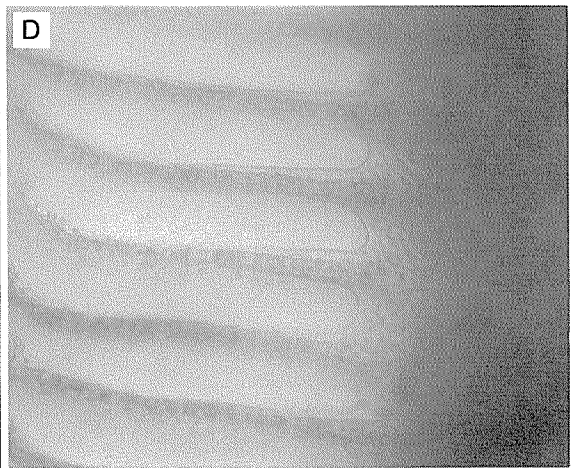
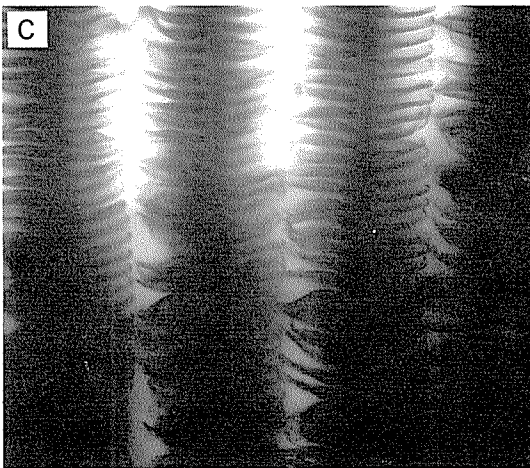
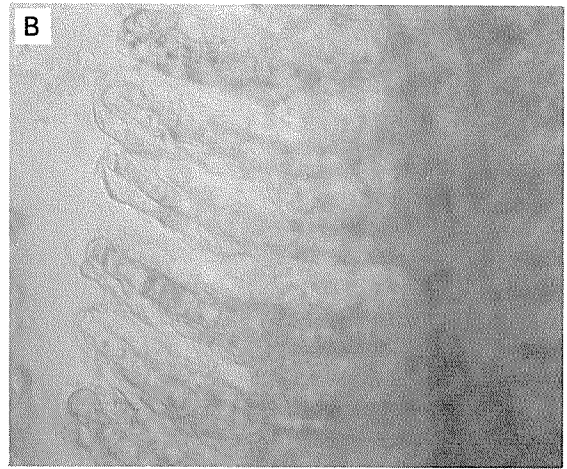
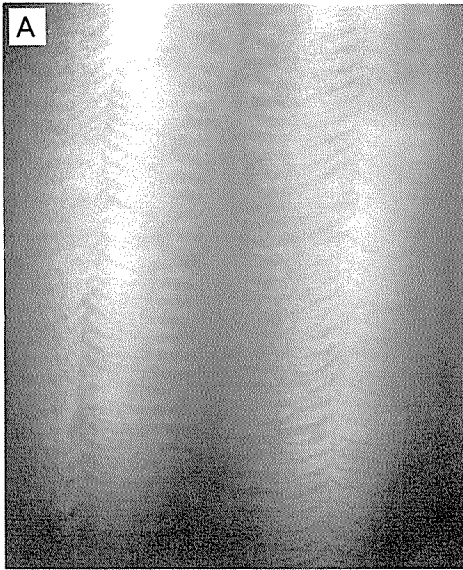


写真 5 - 1 - 2 (2) 酸素欠乏時の鰓の形態像

(A); 死後 4 ~ 14 時間

(B); 死後 4 ~ 14 時間 (拡大)

(C); 死後 4 ~ 14 時間
(上皮を水洗で剥す)

(D); 死後 4 ~ 14 時間 (拡大)
(上皮を水洗で剥す)

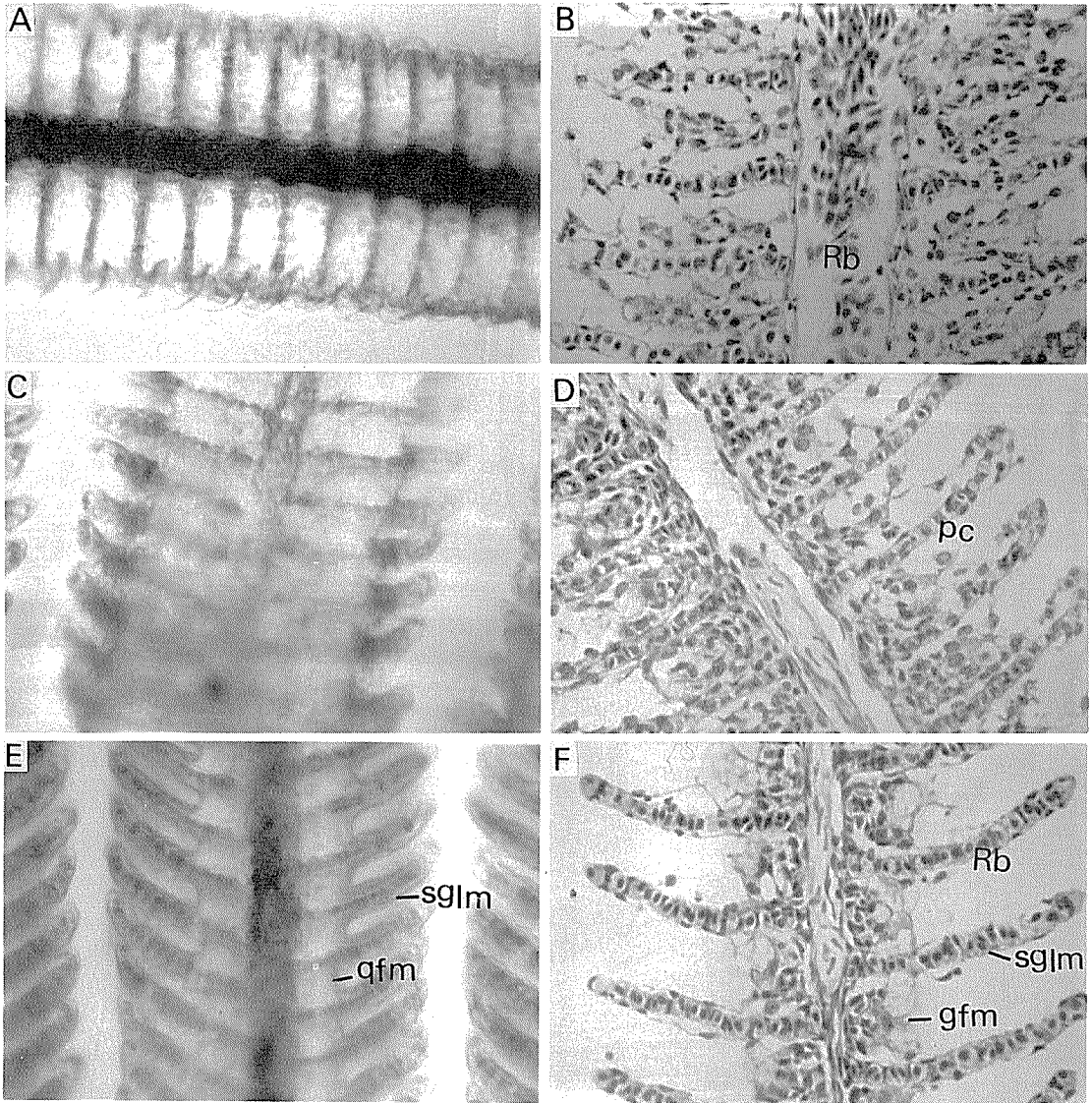


写真 5 - 1 - 3 (1) 酸素量及び飼育水温の違いと鰓形態

(A); 飼育水温 6℃における鰓実体像

(B); 飼育水温 6℃における鰓組織像

(C); 飼育水温 14℃における鰓実体像
(6℃酸欠時と類似)

(D); 飼育水温 14℃における鰓組織像
(6℃酸欠時と類似)

(E); 飼育水温 14℃の魚を酸欠状態にした
場合の実体像 (飼育水温 23℃と類似)

(F); 飼育水温 14℃の魚を酸欠状態にした
場合の鰓組織像 (飼育水温 23℃と類似)

PC ; ピラー細胞 Rb ; 赤血球 sglm ; 二次鰓弁上皮 gfm ; 鰓弁上皮

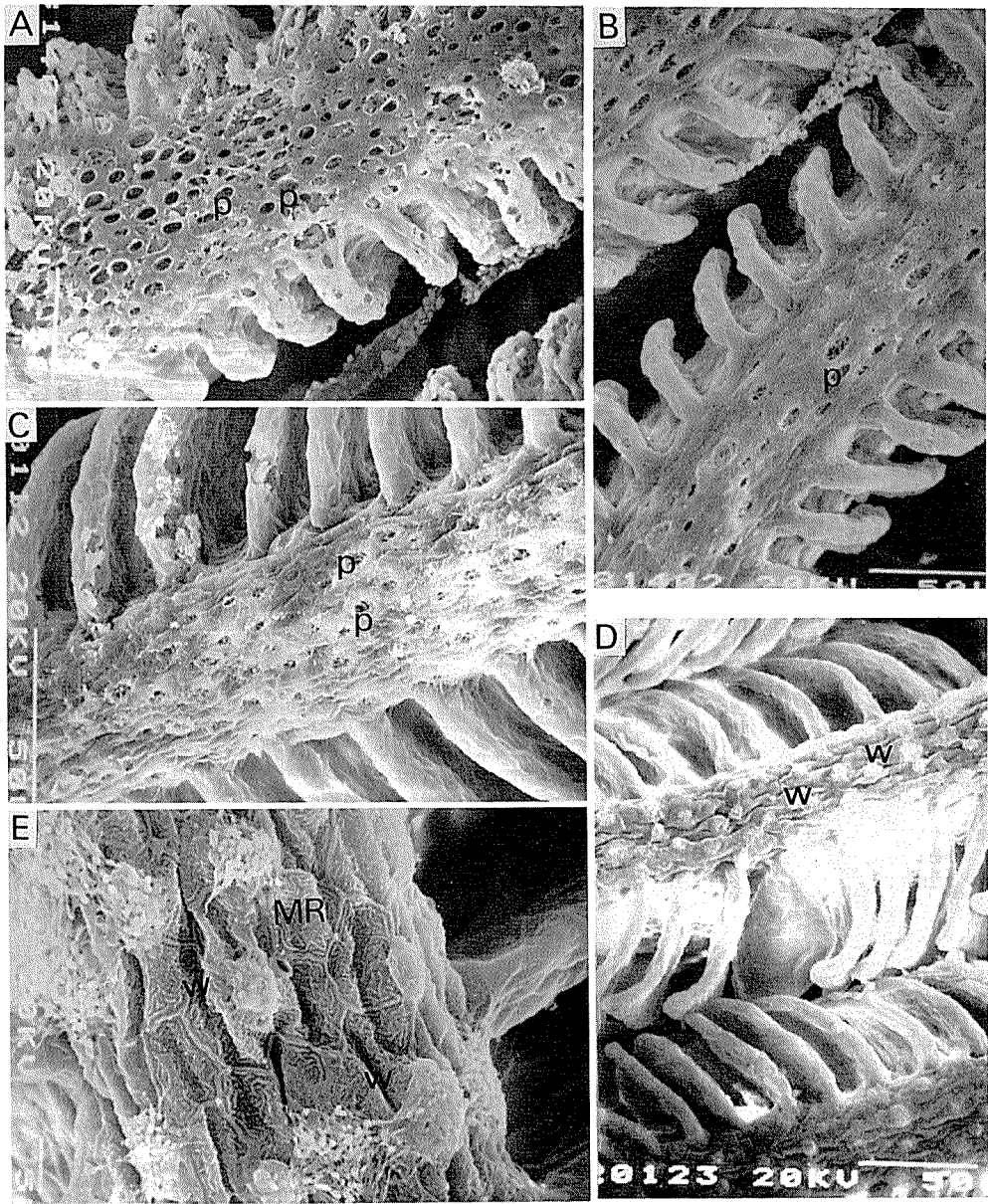


写真 5 - 1 - 3 (2) 酸素量及び飼育水温の違いと鰓形態

(A); 飼育水温 6°Cにおける鰓

(B); 飼育水温 14°Cにおける鰓

(C); 飼育水温 23°Cにおける鰓

(6°C酸欠時と類似)

(14°C酸欠時と類似)

(D); 飼育水温 23°Cの魚を酸欠にした場合の鰓

(E); (D)を拡大したもの

MR ; ミクロリッジ(Microridges)

P ; 穴(pore)

W ; しわ(Wrinkles)

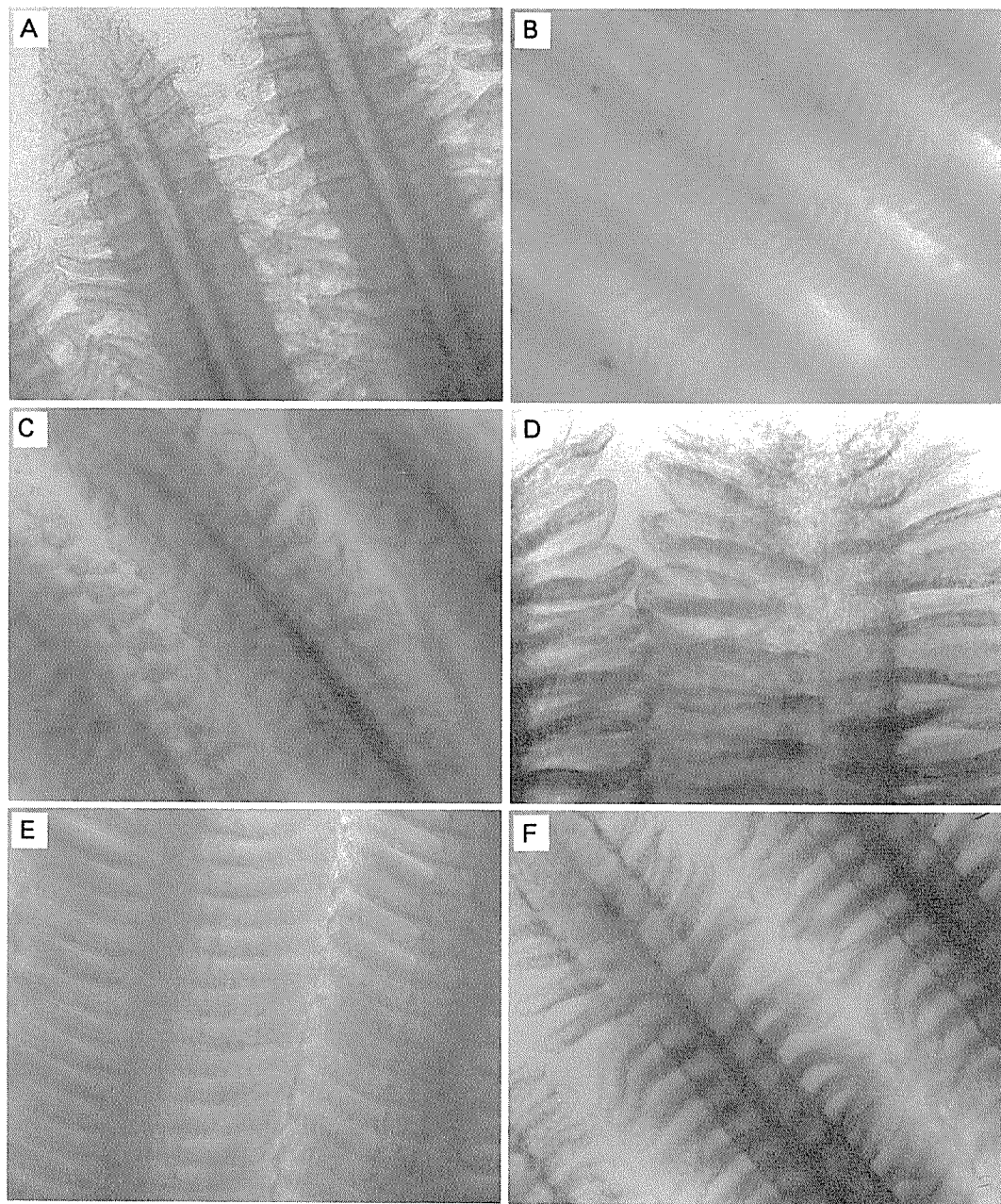


写真 5 - 2 - 1 薬剤の影響を受けた鰓形態像

(A); CN^- 0.25 mg / ℓ に曝露時の鰓

(C); $\text{Cu}(\text{Cu SO}_4)$ 1mg / ℓ に20分曝露時の鰓

(E); NaOHでpH11に調整した水に曝露し、
死後1時間経過の鰓

(B); $\text{Zn}(\text{Zn SO}_4)$ 10 mg / ℓ に曝露時の鰓

(D); $\text{NH}_4\text{-N}$ 450 mg / ℓ に4時間曝露時の鰓
(pH 7)

(F); 残留塩素 1 mg / ℓ に20分曝露時の鰓

5-2-3 結果

5-2-3-1 遊泳状況

これらの薬剤に暴露した実験の結果では、CN、Cl₂、NH₄OHでは、死亡時に鼻上げ症状が見られ、さらにCN、Cl₂では狂奔症状も見られた。Zn、Cu、NaOH、HClにおいては狂奔症状を示したが、鼻上げ症状は見られなかった。

5-2-3-2 死亡時の魚の状態

CN、NH₄OH、Cl₂では浮上魚と沈下魚が見られたが、Zn、Cu、NaOH、HClではすべて沈下して死亡していた。死亡時の口の開閉状況については、Zn、HClではすべて口をほとんど閉じて死亡していた。CN、Cu、NaOH、Cl₂、NH₄OHでは一部に口を開いている個体が見られたが、ほとんど口を閉じて死亡していた。

5-2-3-3 外観

体表は、HClを除いては粘液異常分泌が見られ、NaOHでは糸を引くような異常分泌が見られた。HClでは体表はざらざらした感じを示した。

体色は、Cl₂、NH₄OHでは暗化し、Cuでは明化し、CNでは暗化魚、明化魚いずれも見られた。眼球はHClによる死亡時には白濁していた。

5-2-3-4 死亡時の鰓の肉眼および光学顕微鏡所見

薬剤の濃度が高い側においては、低い側とは異なり、鰓を10%ホルマリン溶液で固定した時と類似の形態像を示した。低い側の濃度における鰓の肉眼及び光学顕微鏡所見を表5-2-1、写真5-2-1に示した。表より、Cuでは鰓は暗赤色で出血と2次鰓弁の屈曲が見られた。Znでは鰓弁上皮の拡張及

表5-2-1 薬剤に暴露された魚の死亡時の鰓の特徴

	Cu(CuSO ₄) (10mg/l)	Zn(ZnSO ₄) (1mg/l)	CN(KCN) (0.25mg/l)	Cl ₂ (0.5mg/l)	NH ₄ OH (450mg/l)	NaOH (pH11)	HCl (pH3)
鰓の色	暗赤色	暗赤色	鮮紅色	紅色・淡紅色 周辺白化	暗赤色	暗赤色	暗赤色 周辺白化
鰓弁上皮	出血	拡張	収縮	収縮	収縮	—	壊死崩壊
2次鰓弁 上皮	出血 屈曲	浮腫	収縮	浮腫	浮腫	—	壊死崩壊
2次鰓弁 配列	不規則	不規則	不規則	不規則	不規則	不規則	不規則

び2次鰓弁上皮の浮腫が見られた。CNでは、酸素欠乏時と類似して、鰓弁上皮、2次鰓弁上皮の収縮が見られ、2次鰓弁は酸素欠乏時の形態に比べて不規則な配列が見られる。Cl₂では、死亡時には鰓は紅色ないしは淡紅色で2次鰓弁に浮腫が見られ、個体により出血が見られた。NH₄OHでは、鰓は暗赤色で2次鰓弁に浮腫が見られ、個体により一部出血が見られた。NaOHでは、鰓は暗赤色で、糸を引く

ような粘液異常分泌が見られた。HClでは、鰓は暗赤色で鰓の周辺部が白化し、鰓弁及び2次鰓弁の壊死崩壊が見られた。

5-2-3-5 死亡後の鰓の肉眼および光学顕微鏡所見

薬剤に暴露されてから2から3時間以上経過すると、どの薬剤においても、鰓の色は徐々に退色するとともに、鰓弁、2次鰓弁の壊死崩壊が見られる。

この壊死崩壊は、薬剤の入っていない水に移した方が早いと思われた。また、魚が浮上して死亡している場合に、狩谷⁹⁾が述べているように、空気中にさらされている鰓の方が、水中にある鰓よりも、壊死崩壊は、遅い傾向が見られた。

5-3 まとめ

- (1) 酸素欠乏に伴う鰓を中心とした形態の変化について、コイを用いて検討した。酸素欠乏時には、酸欠特有な鰓形態を示したが、薬物に暴露された時に見られるような出血は認められなかった。
- (2) 酸欠で死亡し、死後数時間経過したコイの鰓が、鰓の上皮は壊死崩壊するが、2次鰓弁が規則的配列で維持されていた。
- (3) 酸素量及び飼育水温の違いと鰓形態との関係については、組織切片像及び電子顕微鏡像から裏づけた。
- (4) コイを指標に、数種の薬剤の遊泳行動や鰓形態などへの影響について、検討した。その結果は、酸素欠乏時とは異なった症状を示し、遊泳行動や鰓形態が死亡原因究明の有効な指標となると考えられた。

文 献

- 1) 尾崎久雄：魚類生理学講座2、緑書房、(1970)。
- 2) 水尾寛己、磯貝純夫：魚類の形態学的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、186-191 (1986)。
- 3) 水尾寛己：酸素欠乏・過多、及び残留塩素暴露時におけるコイ (*Cyprinus Carpio*) の鰓形態変化について、横浜市公害研究所報、4、143-152 (1979)。
- 4) 水尾寛己：コイ (*Cyprinus Carpio*) の鰓における形態学的研究—水温及び溶存酸素量との関係—、横浜市公害研究所報、9、101-107 (1984)。
- 5) 水尾寛己：コイの鰓の形態に関する研究—水温および酸素量との関係—、昭和58年度日本水産学会春期大会講演要旨集、(1983)。
- 6) 水尾寛己、池田弥生：鰓形態の観察による魚類へい死事故の原因究明について、第24回水質汚濁学会講演集、219-220 (1990)。
- 7) 水尾寛己、樋口文夫、二宮勝幸：鰓の形態観察による酸欠死の有無の推定方法、横浜市公害研究所報、15、75-79 (1991)。
- 8) 水尾寛己：昭和62年度水産学会秋期大会講演要旨集。
- 9) 狩谷貞二：第8章 へい死事故原因調査法、新編 水質汚濁調査指針、日本水産資源保護協会編 (恒生社厚生閣)、450-514 (1980)。
- 10) 加藤邦夫、村瀬秀也、伊藤啓一、下川 平：県下における魚類のへい死について (昭和45年度)、岐阜県公害研究所年報、6、51-56 (1977)。

- 11) G. M. Hughes and S. F. Perry : A Morphometric study of Nickel Chromium and Cadmium on the secondary lamellae of Rainbow Trout Gills, *Water Research*, 13, 665-679 (1979).
- 12) Geoffrey Smart : The effects of ammonia exposure on Gill Structure of the Rainbow Trout, *J. Fish. Biol.* 8, 491-512 (1974).
- 13) J. F. Skidmore and P. W. Tevell : Toxic effects of Zinc Sulphate on the Gills of Rainbow Trout, *Water. Res.* , 6, 217-230 (1971).
- 14) D. P. M. Daugh, A. M. Crane and J. A. Couch : Toxicity of chlorine to Junvile spot *Leiostomus xanthurus*, *WAter. Res.* , 11, 1089-1096 (1977).
- 15) P. D. Abel and J. F. SkidmOre : Toxic effects of an anionic detergent on the gills of Rainbow Trout, *Water. Res.* , 12, 157-1638 (1974).
- 16) Jeremy. T. P. : Histological and Electron Microscopical Observations on Copper Poisoning in the Winter Flounder, *J. Fish. Res. Board can*, 26, 2785-2793 (1969).
- 17) George R. Gardner and Paul. P. Yevich : Histological Responses of an Hematol ological Responses of an Estuarine Tereost to Cadmium, *J. Fish. Res. Board Can*, 27, 2185 -2196 (1970).