

ウズラ *Coturnix coturnix japonica* に及ぼす

リン化亜鉛の影響について

池田 真次郎⁽¹⁾Shinjiro IKEDA: The Toxic Effect of Zn_3P_2 (Zinc Phosphide)
on Panned Quail, *Coturnix coturnix japonica*

要旨：殺虫剤として最も多く山林で使用されているリン化亜鉛(Zn_3P_2)の、野兎以外の野生鳥獣への影響の模索試験を、飼ウズラを材料として実施した。直接害の様態を把握するのを目的とし、一定の試験手法で致死量 (LD_{50}) を求め、さらに受精率、産卵率をはかり影響度を追求した。 LD_{50} 値はウズラ 3 個体、♀ 5 個体を 1 単位とし、7 単位を 10~70mg/kg にわたる薬量階級で検索し、35mg/kg であるのがわかった。ちなみにラッテでの LD_{50} 値は 40~75mg/kg である。つぎに、得られた LD_{50} 値の 1/10、1/50 量を、はじめに 10 日間連日投与し、ついで 25 日間常法飼育にもどし、さらに 10 日間連日投与し、その間産出された卵をすべて人工ふ卵器に収納し、受精率、産卵率を求めた。薬剤はウズラ各個体の体重に相応する量をカプセルにいれ、経口的に強制投与した。それによる刺激の影響は、産卵率では平均 15% の影響度があったが、受精率には無関係であった。

1/10 量試験では、最初の 10 日間の期間ですでに受精率の低下がみられ、日時の経過とともに低下率は増大し、最後の 10 日間の期間の後期には死亡個体がみられた。1/50 量試験では、最初の 10 日間の期間から受精率に影響がでたが、30 日目以後から急激に低下率が大きくなった。しかし、死亡個体はみられなかった。結論として、本薬剤のウズラに対する影響は明らかに認められた。なお本実験によって、多くの解明すべき問題があるのを知り得た。

I はじめに

殺虫剤で登録されているのは 24 種あるが、うち 7 種が比較的出荷量が多い。出荷量は 710 t で、リン化亜鉛 (Zn_3P_2) を主材とする種類の薬剤は 397 t、約 56% を占めている (農業要覧, 1970, p. 29, p. 333 による)。 Zn_3P_2 は酸化によってリン化水素ガス (PH_3) を発生し、野兎が喫食した場合消化器内でガス発生が起こり、それによって死亡する。本剤を主体とした市販の殺虫剤のなかには、副次的な害を防ぐ意味で鳥類の忌避剤を被覆したのもも発売されている。一般には、山林、原野で野兎発生を防除または駆除を目的とする場合、小麦粒またはトウモロコシのような穀粒とか、その碎片に薬剤をまぶしたものを、ヘリコプターで空中から散布したり、人力で手まきというような方法で実施される。いずれにしても、地上に粒子状の穀類に薬剤を被覆したものを散布するのだから、とくに鳥類が忌避するような加工が施されていないものは、当然山林棲の鳥類、野兎以外の小形獣類などもこれを喫食する可能性は十分認められる。したがって著者は、 Zn_3P_2 が野兎以外の動物とくに鳥類に及ぼす影響を探索する一模索試験として本実験を実施した。

II 実験方法

1. 実験材料

東京都畜産局畜産試験場江戸川分場で、系統的に[・]化育成した5週齢のウズラ 213 個体（♂68個体，♀145個体）を基本として、外観的体形，体重などによって供試個体にはなほだしい個体差のないよう選別供試した。ウズラは飼育されているものと野生種との間に、体形的にとくに差がなく，飼育下では狭い飼育箱内でもよく産卵し，5週齢に達すると成熟する。すなわち，飼育管理が容易であり，世代の交代が早く，温順な性質などから実験動物として扱いが容易である。ただし，ラッテやマウスのように，実験動物として最も重要な系統性が固定されておらず，個体差が大きく，ために試験データに乱れがでるのが欠点と思われる。ある一定の広さを持った野外飼育場で，ニワトリ用の飼料で飼育すると，動作，形体ともに純野生種と変わらないようになる。以上のような事実から，野生鳥として扱って実験に供した。

供試薬剤である Zn_3P_2 は直接製薬会社から純体（純度96.0%）を入手し，そのまま使用した。

2. ウズラの飼育管理

29（奥行）×22（間口）×11（高さ）（cm）の床面のみが金網張りの飼育箱が6個ならんだ棚が8段あるバッテリー式ウズラ飼育棚を使用し，1飼育箱に♂1個体，♀2個体を収納し，1単位とした。飼料はウズラ用配合飼料（日本配合飼料K. K. 製造）を1日1個体あたり約25gを与え，飲用水は10（長さ）×3（幅）×4（深さ）（cm）のブリキ製水槽をおき，朝夕（ほぼA. M. 9.00, P. M. 5.00）の2回，給餌，給水を実施した。ウズラは温度に対し敏感で，気温が10°C以下，30°C以上になると産卵を中止するので，10月中旬～4月下旬までは電気ストーブ，7月中旬～9月上旬までは排気扇を使用し，環境温度を19～23°Cに保つようにし，飼育箱の清掃（糞受板）は週2回クンゾール石けん液で洗浄した。なお，産卵を促進するためニワトリ飼育の技法にならって，20Wの白色蛍光灯2本を14～16時間1日に点燈した。

III 実験経過

1. 実験様式

LD_{50} 値を探索し，当該値の1/10，1/50量を後記してあるような一定様式によって連続投与し，受精率，産卵率の変化を検討しウズラに対する直接の影響をみる方法をとった。求められた LD_{50} 値の1/10，1/50量を供試個体の体重に相応した量だけをカプセル（日本薬局法 J. P. No. 2）にいれ，強制的に経口投与した。その方法は，最初10日間連日投与し，つづいて25日通常法飼育法にもどし（この間はいうまでもなく薬剤投与はしない），さらに続いて10日間連日投与した。その間逐次産出される卵は，5～7日間貯卵しておき，[・]卵器に収納するようにして経過を調べた。10日，25日，10日の日数間隔にはとくに意義はないが，中間に25日間の通常飼育期間をはさんだのは，最初の10日間連続薬剤投与の影響が残存する時間的範囲を多少考慮にいらただけである。なお最後に薬剤を投与した10日間以後，6～7日間に産出された卵も[・]卵器に収納検査した。受精卵と認めたものは，[・]化したものはもちろん，中止卵（途中で胚の発育がとまったもの），死[・]も[・]り卵（ヒナとなって卵殻を破って外に出られず死亡したもの）を含めたものを意味している。

2. LD_{50} 値の探索

28週齢のウズラ♂3個体，♀5個体を1群とし，投与薬剤濃度段階を10，20，30，40，50，60，70（mg/kg）の7階級として，7群について実験した。結果は Table 1 に示すようになった。

Table 1.

濃度段階(mg/kg)	体重 (g)	投薬量(mg)	死 亡 数	死亡所用時間 (時間・分)
10	100~130	1.0~1.3	0/8	0
20	100~140	2.0~2.8	4/8	12~17
30	100~130	3.0~3.9	4/8	10.20~11.30
40	90~120	3.6~4.4	5/8	10.03~15.30
50	90~120	4.5~6.0	7/8	9.00~10.30
60	100~130	6.0~7.8	4/8	4.10~ 9.00
70	100~130	7.0~9.1	8/8	1.45~ 9.50

(注) 1. 実験中は気温 19°~21°C, 関係湿度 69~79%。

2. ♂・♀の間には, 特に薬剤に対する反応の差はみられなかった。

本表の結果から Behrens-Kaerber 法により LD₅₀ 値は 35mg/kg が求められた。ちなみに, ラットの LD₅₀ 値は 40~75mg/kg である。

3. 受精率・産卵率に及ぼす影響

LD₅₀ 値 (35mg/kg) の 1/10, 1/50 量を [III-1] の方式によって投与し, 産出された卵をすべてふ卵器に収納し経過を観察した。実験準備として約 1 か月前から, ふ卵器固有のくせ, ふ卵最中の卵の攪卵回数, 採卵回数, 可能な限りのふ卵器の操作, ふ卵技術上の「馴れ」の修得, 採卵したものの貯蔵条件の均一化のくふう (貯卵は最高 7 日間とし, 乾燥した冷暗所に糊殻をしいた容器に収納する) に費し, ふ化操作上からの影響を最少限度にとどめるべく努力した。

(a) LD₅₀ 値の 1/10 量投与試験

(i) 受 精 率

36週齢のウズラ♂ 1 個体, ♀ 2 個体を 1 単位とし, 4 単位を 1 群とし 4 群をつくり (48 個体), うち 2 群を試験区, 2 群を対照区とした。対照区内の 1 群は空のカプセルを強制経口投与し, 他の 1 群は常法飼育の状態においた。6月16日から薬剤投与を開始し, 10日, 25日, 10日, 9日の計59日間にわたり [III-1] 様式により試験したが, 薬剤投与の最初の10日間は全般に各個体が衰弱状態を示し, 採食量が減退し, 行動もにぶくなった。続く25日間の常法飼育状態下では, 各個体は外観上平常状態にもどったが, 次の薬剤投与の10日間には, 投与開始後 8 日目に♂ 1 個体, 9日目に♀ 1 個体, 10日目に♀ 3 個体, ♂ 1 個体が死亡し, 続く常法飼育下の 2 日目に♂ 3 個体, ♀ 1 個体, 3 日目に♀ 2 個体, ♂ 1 個体, 計13個体が死亡している。これらをまとめてみると Table 2 のようになる。

死亡個体の死亡までの薬剤投与積算量を見ると, LD₅₀ 値 3.5mg/100g (ウズラの体重を平均 100g とし) のそれより低い量で, しかも薬剤投与日から 5~10 日目に死亡している。本現象は, 一時にある限度で与えられる薬量の効果より, 少量あて連続的に投与される方が, 毒性効果がより強く影響を示すと解釈する以外に説明がつかない。ここにも生理的な問題として, 解決しなければならない不明点がある。

本試験の結果は Fig. 1 に示すようになった。

受精卵の検索は 5 日間隔で調査し, 光線透視法, 死ごもり, ふ化数などの現象で判別した。予備試験によるとカプセルを強制的に投与するのは受精率には影響がない (Fig. 1 上方にある曲線がそれを示す)。薬剤の影響は, 試験区 2 群にはほぼ同様でいど明らかに現われ, 最終の薬剤投与期間には 8 日目で個体の死亡があったので, 5 日間までの成績をとり, 後は経過の観察のみとしてデーターはとらなかった。

Table 2.

	性・体重(g)	死亡するまでの 投薬積算量(mg)	死亡するま での時間
1	♂ (100)	2.80	8-23-08
2	♂ (100)	1.40	5-10-30
3	♀ (120)	2.20	5-20-20
4	♂ (100)	3.05	9-10-51
5	♀ (100)	3.05	8-23-07
6	♀ (120)	3.05	9-21-07
7	♀ (120)	4.20	10-1-23
8	♂ (100)	3.05	9-2-10
9	♀ (120)	2.94	7-21-0
10	♀ (110)	2.73	7-21-13
11	♂ (120)	3.76	5-1-47
12	♀ (110)	3.12	8-1-07
13	♂ (110)	2.73	7-22-20

(注) 死亡するまでの時間は、各個体に投薬した時点から積算したものである。

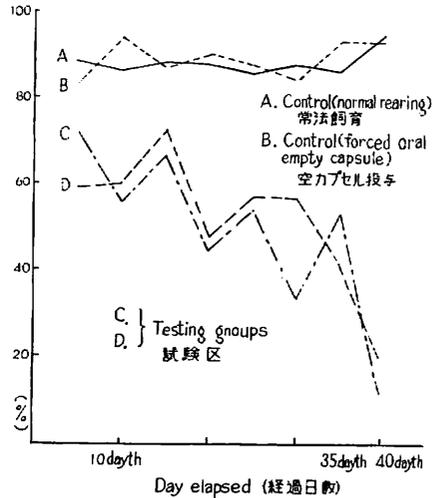


Fig. 1 受精卵曲線
Fertilization rate ($LD_{50} \times 1/10$)

(ii) 産卵率

♀ 1 個体が 1 日 1 個産卵するとし、その数を基準として 5 日ごとの産卵数との比を求めてみた。結果は Fig. 2 に示すようになる。

試験区は 2 群を平均したものを図表化してあるが、対照群に対し影響あるのを示している。さらに対照群では、空のカプセルを強制投与したものと、全く常法に従って飼育したものとの間に、カプセル投与群は産卵率が平均約 15% 低下し、カプセルを吞ませるといふ事実が刺激となって影響しているのが明らかになった (Fig. 2 上方にある曲線がそれを示す)。

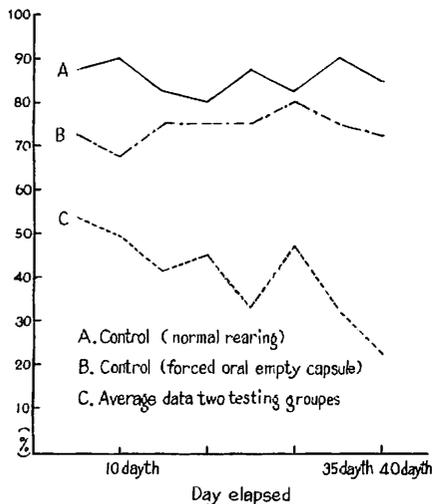


Fig. 2 産卵率
Egg-laying rate ($LD_{50} \times 1/10$)

(b) LD_{50} 値の 1/50 量投与試験

(i) 受精率

18 週齢のウズラ ♂ 1 個体、♀ 2 個体を 1 単位とし、試験区 16 単位 (48 個体)、対照区 2 単位 (6 個体) とし、〔II-2〕により飼育管理し、1/10 量投与試験とほぼ同様の手法により実施した。7 月 10 日に投薬を開始し、5 日間種卵を貯蔵し、ふ卵器に収納した。受精現象の調査は 4~5 日ごとに行われた。結果は Fig. 3 に示すようである。

試験区は 16 単位の平均を示し、対照区は 2 単位の平均を表示してある。受精率は最初の 10 日間の薬剤投与期間からすでに対照区にくらべ低下し、常法飼育期間の末期からやや低下率が增大し、最終 10 日薬剤投与期間にいたって急激に低下率が增大している。明らかに本試験においても受精率に影響を及ぼ

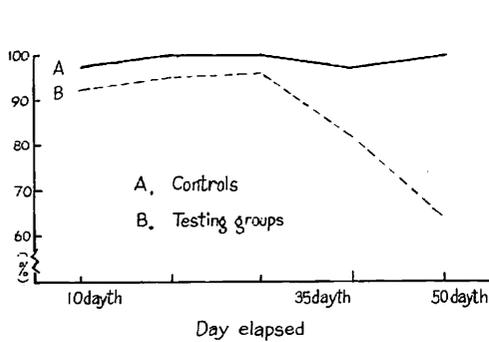


Fig. 3 受精卵曲線
Fertilization rate ($LD_{50} \times 1/50$)

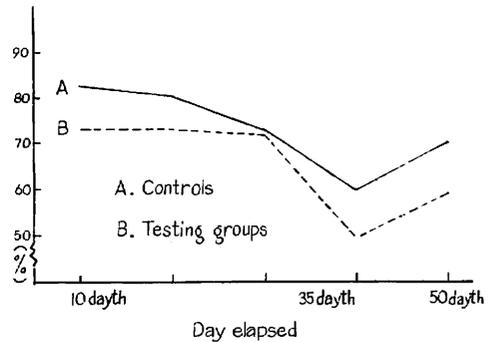


Fig. 4 産卵率
Egg-laying rate ($LD_{50} \times 1/50$)

すのが判明した。

(ii) 産卵率

百分率のとり方は前試験と同様だが、対照区も試験区も各単位の平均値で示してある。結果は Fig. 4 である。

本実験でも対照群にくらべ試験区の方が産卵率が低下しているが、その差は平均15%以内にとどまっている。試験期後半にいたって対照区も試験区も並行的に産卵率の低下を示しているが、これは飼育管理上の影響が強く作用している結果である。

4. 死亡した個体の解剖所見

いずれの試験を通じても、死亡した個体の解剖所見の結果は下記のいずれかに相当し、また、ふたつ以上の現象を同時に示しているものもあった。すなわち、心臓の充血・肥大、肝臓の充血・変色、消化器(主として腸管)の毛細管のど張、肺臓充血などである。これらの現象は、薬剤による作用かまた物理的な作用(死亡する時の苦悶)により現出されるものかは不明である。

IV ま と め

実験開始前に、ウズラの飼育管理法、ふ卵器の扱い方などについての「馴れ」をつくるため、約1か年間予備実験をした。飼育管理法は受精率その他に強い影響を及ぼすので、重要な事項だからである。LD₅₀値1/10量投与試験ではウズラの個性によるデータの乱れ。飼育管理のふてぎわによる影響などが現われていないが、1/50量投与試験ではやや現われている。濃度が高い試験では薬剤の影響が強力なので、データの乱れがおもてに現われず、潜在的にかくれてしまうとも考えられる。いずれにしても本実験を実施する場合には、実験環境の整備は完璧を期すべきであろう。また他方ウズラの実験動物化の研究も早急に解決しなければならない。

受精率は、受精した卵すなわち、ふ化した卵、中止卵、死ごもり卵を含むが、中止卵は胚があるていど発育しそのまま成長を中止したもので、光線透視法で判定するので、無精卵のため腐敗しなかったものとの区分がむずかしく、判別に熟練を要する。中止卵、死ごもり卵などの発生の原因も生理化学的な検討を加えるべきものと思う。

ウズラ自体の実験動物としての適否、実験法の不完全さ、また供試薬剤の化学的性質(成分)の再確認、飼料の栄養分析などを実施していない点で、本実験そのものに多くの欠点があるのは認めざるを得ない。たとえば受精率の検索試験で、LD₅₀ 値の 1/10、1/50 量の 2 段階のみしか実施していないが、これをさらに細密な段階で検討し影響をみなければ、真の試験目的に合致しない。DDT を使用し、マウスの不妊性の研究⁴⁾、ニワトリの精子形成に対する試験¹⁾などが発表されており、生殖器関に影響することを直接探求する目的のため、薬剤の濃度を低く規制している。それらの研究にくらべると本試験でも、薬剤の濃度をさらに低下させ、生殖器関のみへの直接影響を探索すべきで、生殖器関だけへの影響で無精卵が生ずるのかどうかを追求すべきである。本問題は、動物類の不妊剤の選択、遺伝形質の変異などの将来性の研究問題を考慮するうえに、重要なことなのである。そこにいたるまでの段階として、本試験の場合には内臓のどこにどのような機構で作用し、受精率に影響を及ぼすかをみるべきである。それには、薬剤の体組織内の定量・定性分析、組織学的な移行状態の追跡などの検討は必然的に実施されなければならない。

以上の諸点の考察のもとに本試験の内容的な検索をしてみると、模索試験の段階以上のものではなく、さらに本質を追求するためには、細部にわたる検索が必要と考える。最近チェコスロバキアでも Zn₃P₂ につき、キジ、パートリッジで毒性試験を実施し¹¹⁾、危険性が指摘されているが、これも直接害についてのみ実施結果を発表している。

つぎに、本試験では一定時点での直接害が述べられているが、時間的要素を加えた考察と実験が実施されなければならない¹⁶⁾。薬剤の化学的性質にもよるが、有毒成分が長期間持続残留されたり、自然状態で分解し、新たな化合物をつくり別な毒性を発揮する可能性のあるもの(とくに 2 種以上の薬剤が混合されているもの)などは、自然生態系を通じ濃縮現象がおこる。ある時点では、精巧な計器で毒性が検出し得ない場合でも、極小微量の有毒物質が残留すれば、時間の経過とともに毒物の生態系を通じての濃縮現象がおこりうる。これらの問題についても、慎重に検討が加えられておくべきである。

文 献

- 1) ALBERT, Thomas F.: The effect of DDT on the sperm production of domestic fowl. *Auk*, 78, 1, 104~107, (1962)
- 2) ATKINS, T. D.: Effects of Dieldrin on reproduct of penned pheasants. *The Jour. of Wildlife Manage.*, 31, 4, 746~753, (1967)
- 3) BAXTER, William L.: Dieldrin effects in two generations of penned hen pheasants. *The Jour. of Wildlife Manage.*, 33, 1, 92~102, (1970)
- 4) BERNARD, Richard F.: Some effect of DDT on reproduction in mice. *The Jour. of Wildlife Manage.*, 45, 2, 272~276, (1964)
- 5) DAHLGSEN, Robert B.: Eggshell thickness in pheasants given Dieldrin. *The Jour. of Wildlife Manage.*, 34, 1, 226~228, (1970)
- 6) GENELLY, Richard E.: Effects of DDT, Toxaphene and Dieldrin on pheasant reproduction. *Auk*, 73, 4, 529~537, (1956)
- 7) GILL, John A.: Tolerances of two populations of Ring-necked pheasants. *The Jour. of Wildlife Manage.*, 33, 1, 630~636, (1965)
- 8) GILL, John A.: Toxicities of DDE and some other analogs of DDT to pheasants. *The Jour. of Wildlife Manage.*, 34, 2, 223~226, (1970)

- 9) HUNT, L. Barrie : Response of robins to DDT and Methoxychlor. The Jour. of Wildlife Manage., 33, 2, 336~345, (1965)
- 10) 池田真次郎 : 農薬と野生鳥獣, 北方林業, 22, 10, 287~289, (1970)
- 11) LANDA, Jiri : The toxic effect of Zinc Phosphide baits on partridges and pheasants. The Jour. of Wildlife Manage., 34, 1, 220~223, (1970)
- 12) RUDD, R.L. : Avian mortality from DDT in California rice fields. Condol, 57, 2, 117~118, (1955)
- 13) STICKEL, William H. : Effects of Heptachlor contaminated earthworms on Wood-cock. The Jour. of Wildlife Manage., 29, 1, 132~146, (1965)
- 14) STICKEL, William H. : Body condition and response to pesticide in Wood-cocks. The Jour. of Wildlife Manage., 29, 1, 147~155, (1965)
- 15) 立川 涼 : 農薬による環境の汚染, 化学と生物. 8, 9, 539~547, (1970)
- 16) WRIGHT, Bruce S. : Some effects of Heptachlor and DDT on new Brush-wick Wood-cocks. The Jour. of Wildlife Manage., 29, 1, 172~185, (1965)

The Toxic Effect of Zinc Phosphide (Zn_3P_2) on Pinned Quail,
Coturnix coturnix japonica

Shinjiro IKEDA⁽¹⁾

Summary

Using Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*, as testing material, a test was conducted on the direct harm afflicted on the bird by Zn_3P_2 which is being much used in the forest as a rodenticide. The chemical's lethal dose (LD_{50}) was decided in the first place, and then 1/10 and 1/50 doses thereof were given continuously to the bird, and the resulting fertilization rate and egg-laying rate were measured. The lethal dose was decided as follows: Seven groups of the quail, 28 weeks old, one group consisting of three males and five females, were subjected to the experiment with seven grades of chemical concentration ranging from 10 mg/kg to 70 mg/kg. As the result, $LD_{50}=35$ mg/kg was obtained. In this case, no difference was recognized between male and female with regard to the chemical's effect.

Test on the fertilization rate and egg-laying rate was made by forceful oral medication of the measured amounts of Zn_3P_2 put in a capsule (for human use). The chemical was given continuously for the first ten days, and for the following 25 days the birds were again put under normal rearing without medication, and immediately after that, ten days' medication was repeated. Eggs laid during the total period were tested by putting them in an artificial incubator. The rate of fertilized eggs against the total number of eggs put into the incubator was measured. The egg-laying rate, on a supposition that each female individual would lay an egg a day, was measured by the proportion of actually laid eggs to the total number of days. In the 1/10 dose test, 48 individuals (16 males and 32 females) of 36-weeks-old quail were divided into four groups in which units consisted of one male and two females each, and two groups thereof were made for testing, and two others for control. The results are

Received March 12, 1971

(1) Government Forest Experiment Station, Ministry of Agriculture and Forestry, Japan.
Chief of Wildlife Section.

shown in Fig. 1. The fertilization rate markedly lowered. Moreover, in the testing group mortalities appeared after 40 days. The egg-laying rates are shown in Fig. 2. In comparison with those under normal rearing, those given empty capsules registered lower values by an average of 15 percent. It is thus clear that stress is caused by the forceful giving of capsules. In the 1/50 dose test, 54 individuals of 18-weeks-old quail (18 males and 36 females) were divided into 16 testing groups and two control groups, with units each consisting of one male and two females. The fertilization rates, as shown in Fig. 3, were affected in the testing groups, where the rate dropped drastically from the 30th day from the start of the testing. The egg-laying rates, as can be seen from Fig. 4, began to drop from around the 30th day. However, since the difference with those of the control groups remained within 15 percent, it can be judged that no change worth mentioning occurred. Nevertheless, that these rates for the testing groups and the control groups rose and fell in parallel to each other should be taken as an indication that there were some shortcomings in their rearing and maintenance. At any rate, it can be confirmed that Zn_3P_2 has a toxic effect on the quail.