

## A study on behavior of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) as a biomarker to organophosphorus pesticides exposure

ファトマ, ハナフィ サイアド カハリリ

<https://hdl.handle.net/2324/1398422>

---

出版情報：九州大学, 2013, 博士（農学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名・(本籍・国籍)	ファトマ ハナフィ サイアド カハリリ Fatma Hanafy Sayed Khalil (エジプト)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	生資環博甲第719号
学位授与の日付	平成25年9月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生物資源環境科学府 資源生物科学専攻
学位論文題目	A study on behavior of Japanese medaka ( <i>Oryzias latipes</i> ) as a biomarker to organophosphorus pesticides exposure (魚類の行動に及ぼす有機リン剤の影響に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 大嶋雄治 (副査) 教授 古瀬充宏 鹿児島大学 教授 小山次朗

## 論文内容の要旨

As organophosphorus pesticides (OPs) are widely applied in agricultural and urban systems, a tool is required to monitor and predict their impact on fish and natural ecosystems. Behavioral tests have thus been developed as a new ecological tool for assessing the risk of contaminants on organisms. Using these tests, this study was performed to estimate the risk of the OPs chlorpyrifos (CPF) and dichlorvos (DDVP) on the behavior (swimming, feeding and social) and acetylcholinesterase (AChE) activity of the Japanese medaka (*Oryzias latipes*).

In an acute exposure test, medaka were exposed to 0.018, 0.055, and 0.166 mg L<sup>-1</sup> of each concentration for 96 h. The LC<sub>50</sub> of CPF after 96 h was 0.12 mg L<sup>-1</sup>, and fish showed hypoactivity (decreased swimming speed) when compared with the control. Swimming speeds reduced to 55.6%, 39.0 %, and 27.3% of the control at exposure concentrations of 0.018, 0.055, and 0.166 mg L<sup>-1</sup>, respectively. Brain AChE activity and swimming speed were significantly correlated. In a feeding behavior test, the CPF 96 h LC<sub>50</sub> (0.12 mg L<sup>-1</sup>) stopped medaka feeding after 24 h and 48 h exposure, with inhibited swimming speed and brain AChE activity after 48 h exposure. Thus, I suggest that hypoactivity may be a sensitive biomarker of acute exposure of fish to CPF.

In a subacute test, medaka were exposed to 0.012 mg L<sup>-1</sup> CPF (10% of LC<sub>50</sub>) for 8 days, and behavior was then recorded for 30 min. During this period, the frequency of social behavior patterns, classified as schooling, shoaling, and solitary, were recorded. Swimming speed was also measured. Fish showed hyperactivity, but AChE activity decreased to 68% of the control. Fish also exhibited significant alterations

in their social behavior (increased schooling duration and decreased solitary duration). Thus, hyperactivity and increased schooling behavior may be sensitive biomarkers for identifying sublethal CPF contamination.

To confirm that hypoactivity and hyperactivity occurred in response to different conditions of behavior recording, the medaka were then exposed to CPF at 0.12 and 0.012 mg L<sup>-1</sup> for 12 days. After 4 days of acute exposure to 0.12 mg L<sup>-1</sup>, the medaka were hypoactive with a decrease in social behavior (schooling and shoaling). In contrast, fish exhibited hyperactivity and increased schooling duration after 8 days sublethal exposure to 0.012 mg L<sup>-1</sup>. This was followed by normal activity, and decreased schooling duration on day 12. Thus, using single behavioral responses as biomarkers for OP contamination may give inaccurate results.

In a final test, the LC50 of 24 h exposure to DDVP was found to be 26.2 mg L<sup>-1</sup>. Medaka were then exposed to 1 and 5 mg L<sup>-1</sup> DDVP for 96 h. At 5 mg L<sup>-1</sup>, DDVP significantly decreased schooling and shoaling frequency. Additionally, solitary behavior frequency was significantly lower in the groups exposed to 1 and 5 mg L<sup>-1</sup> DDVP, compared with the control group. However, shoaling and schooling behavior were not affected by exposure to 1 mg L<sup>-1</sup> DDVP. The swimming speed of medaka exposed to 5 mg L<sup>-1</sup> also decreased (hypoactivity). However, 1 mg L<sup>-1</sup> caused no effect on swimming. Thus, I suggest that sublethal exposure to DDVP may induce hypoactivity and decrease schooling in medaka.

Based on the obtained behavioral responses of medaka to OPs exposure, I suggest that behavior may be used as a sensitive biomarker for predicting the ecological risk of OPs in a natural ecosystem. In addition, inhibition of AChE activity might also be an early warning of OPs exposure.

#### 論文審査の結果の要旨

殺虫剤等農薬は、水環境中に流入するとその生理活性により水生生物に非意図的な影響を与える可能性がある。中でも有機リン系農薬はシナプスに存在するアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 活性を阻害して脳神経系に影響を与えるため、遊泳、摂餌、群行動等に異常を引き起こして最終的に個体の生存に影響を与えることが懸念されるが、その影響は明らかでない。本論文は、メダカ (*Oryzias latipes*) を用いて有機リン剤がメダカの行動に与える影響、およびその有機リン剤曝露の影響指標としての可能性について論じたものである。

まず、有機リン剤としてクロルピリホス (CPF、分子量351) のメダカに対する急性毒性試験を行い、96時間半数致死濃度 (96hLC50、0.12 mg L<sup>-1</sup>) を算出した。次に、CPFを0, 0.018, 0.055, 0.166 mg

L<sup>-1</sup>の濃度でメダカに4日間曝露すると、個体の遊泳速度、遊泳距離および脳AChE活性がCPFの曝露濃度に反比例して有意に低下していた。また0.12 mg L<sup>-1</sup>のCPFに24, 48時間曝露したメダカでは、その摂餌行動が完全に阻害されることを示した。CPFの曝露は、AChE活性を阻害し、個体行動の抑制を引き起こすことを明らかにした。

次に、亜急性毒性濃度のCPF曝露がメダカの群行動に及ぼす影響を調べるために、96hLC50の10%のCPF (0.012 mg L<sup>-1</sup>) をメダカ6尾に8日間曝露し、群行動を解析した。その結果、AChE活性は対照区の68%に低下したが、群行動時間および群遊泳速度は有意に増加していた。亜急性毒性濃度のCPFを曝露すると群行動が逆に促進される可能性を示した。

この結果を検証するために、メダカを急性および亜急性濃度 (0.12, 0.012 mg L<sup>-1</sup>) のCPFに曝露して、群行動を解析した。その結果、0.12 mg L<sup>-1</sup>に4日間曝露されたメダカでは、群行動の低下が認められた。しかし0.012 mg L<sup>-1</sup>に8日間曝露されたメダカは、群行動の持続時間と遊泳速度は有意に増加し、上記の結果と一致した。また、同じ有機リン剤であるジクロルボス (分子量221) 1, 5 mg L<sup>-1</sup>を曝露したメダカの群行動が低下することを示している。

以上要するに、本論文は急性毒性濃度だけでなく亜急性毒性濃度の有機リン剤曝露がメダカの行動を低下あるいは促進させ、行動が有機リン剤曝露の影響指標となりうることを示したものであり、水産生物環境学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって、本研究者は博士 (農学) の学位を得る資格を有するものと認める。