

資 料 編

1 魚類指標による工場排水規制手法導入に向けての検討内容

1-1 導入にあたっての問題点および骨子

1-1-1 導入にあたっての問題点 (山口一誠, 森 清和, 水尾寛己)

本市の公害防協定において「排出する汚水について魚類が正常に生育できる水質を確保し、…」と「正常」という概念を用いており、この時に用いた「正常」の概念は、常識的な意味からであり、広辞苑での説明で示すように、どちらかというところ「他と変わったところがなく普通であること、なみであること」の意味であって、「理想的であったり、すぐれている」という意味ではない。

魚類における正常と健康における健康という場合、私たちは、ほとんど同じような意味で用いている。しかし「健康」について広辞苑で引くと「丈夫、壮健」という意味で、「健康体」とは「作業能力が尋常で、栄養良かつ身体臓器の機能の正常な身体」と説明している。次に「病気」についてみると、「生物の全身または一部分に生理的状态の異常をきたし、正常な機能が営めなくなる現象」と説明しており、「正常」「異常」の概念の方が「健康」「病気」という概念よりも幅の広い概念のようである。

協定において生物指標をこのように「正常」の概念で導入したねらいは、生物や人体に及ぼす危害を未然に防止しようということであり、そのためには、「魚類が正常に生育できる水質の確保」は魚類のコイという生物が他の人も含めた生物を代表しえないという点で必要十分条件には及ばないが必要条件であろうという考えからである。

しかし、実際の工場排水での飼育において、排水での飼育魚が正常であるかどうかを判断していくためには、「正常」と「異常」との関係、「正常」の判断方法、基準についてつっこんだ検討が必要となる。また、魚を飼育することがどの程度意義があり、また生物や人体に及ぼす危害を未然に防止する目的から見ての限界性、自然水と異なる排水での飼育という点で飼育技術上の問題等、多岐にわたって問題が山積みされていた。これらの問題点を列挙すると以下の通りである。

魚類指標導入にあたっての問題点

1) 魚類における正常又は健康とは何か

(1)協定文書においては、常識的な意味で「正常」という概念を用いたのであるが、科学的には如何なる概念を用いるべきか

(2)「正常」の内容は、如何にして規定されるか？(正常と異常との関係)

(3)正常と異常との間を相対的(段階的)に区分することが可能か？

2) 工場排水と魚

(1)工場排水において魚を飼育することの意義と限界は？

(2)工場排水は自然水と本質的に異なる

イ) 季節(温度、流量)変化等のない場合の魚への影響は？

ロ) さらに無機塩類が加わった場合の魚への影響は？

(3)上記の制約下と現在の状況下において、工場排水で魚を飼育する場合、魚の正常さの一応の目安は？ 又、この判定は、何を基準にするのが良いか？(魚種、病気、世代交代、期間)

(4)工場排水の特性からして、世代交代はきわめて困難と考えられるが、正常な目安として

それは不可欠な要因か

(5)一世代に限定した場合、どのような状態であればよいか？

イ) 排水の物理的变化(温度, 溶存酸素, SS等)による病気, へい死をどう見るか？

ロ) 汚染物質によらず, 病原菌による場合はどう見るか

ハ) 蓄積をどう見るか

ニ) フナ, コイ類が病気にかからず, 元気に生きていれば, まあよし(正常)と言えるか？(平均寿命は？)

3) 試験について

(1)どのような試験法があり, 何が判るか？ 限界は？

(2)死亡原因を判定することは可能か？(物理的变化, 汚染物質, 病原菌, 老化)

(3)正常さの目安に, 試験は不可欠か？

工場で実施可能な試験法があるか

(4)基準とかかわりなく, 排水の安全性の追求のために, 通常, 魚にどのような試験を行なうことが良いのか？

これらの問題点についても全体の構想を組み立てる意味から, 答えは出しきれないがある程度の意見交換を行ないつつ具体的な問題について作業を開始した。

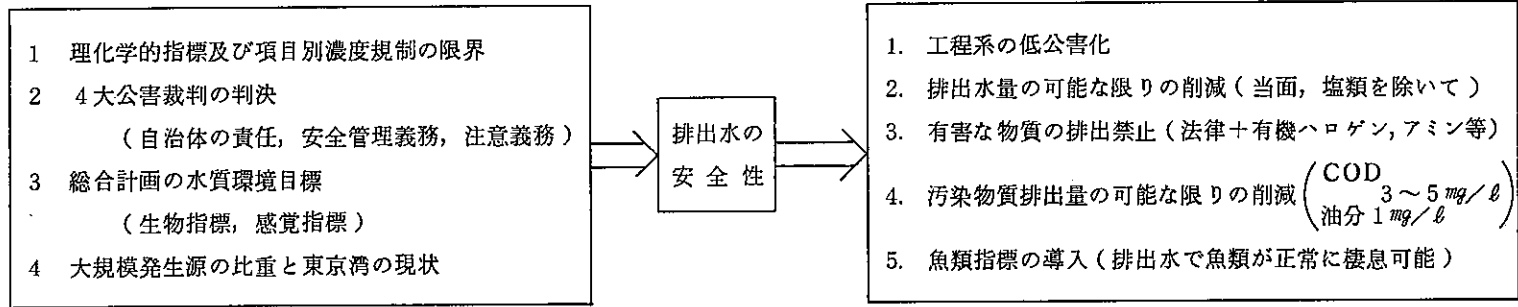
たとえば, 魚類についての「正常」の概念については先に振れたとともに, もっと具体的に話しを進めると, 「健康(正常に生息)」というものは, 恰かも羅針盤の針のように振れながら動的な平衡を保っているにすぎない。」という意見や「バイオアッセイの立場で述べるなら, 実験的に対照区と実験区で差のないように生長し, 繁殖がおこなえることで, 魚が正常に生息しうる濃度として安全濃度, 許容濃度という概念がある」, 「水産の分野では, 魚の寄生虫との関連で正常魚についてははっきりしていないが, 体形, 体色, 摂餌状態, 遊泳状況等により, 一応, 判断の目安となる」などの意見がかわされた。又, 工場排水で魚を飼育することの意義と限界については「工場排水処理施設の維持管理状況の把握の意味からは意義がある。反面, 魚類が生きているから問題はないとは言いきれない要素が多分にある。例えば, その魚類にはあまり影響はないが, 広く環境面から考えた場合に, 底棲動物等の餌となるような微小生物を死滅させる場合である。リン系の農薬に対しては魚類は強く, 水生昆虫等は弱いなど。しかし, 長期的に見れば, 魚類等が棲息し得る水質管理という意義は深い」のような意見が出された。

これらの問題をふまえつつ, 1-1-2の導入の目的, プロセスを念頭に次の1-1-3にかかげた導入にあたっての基本的骨子を固めた。

1-1-2 導入目的及びプロセスについて

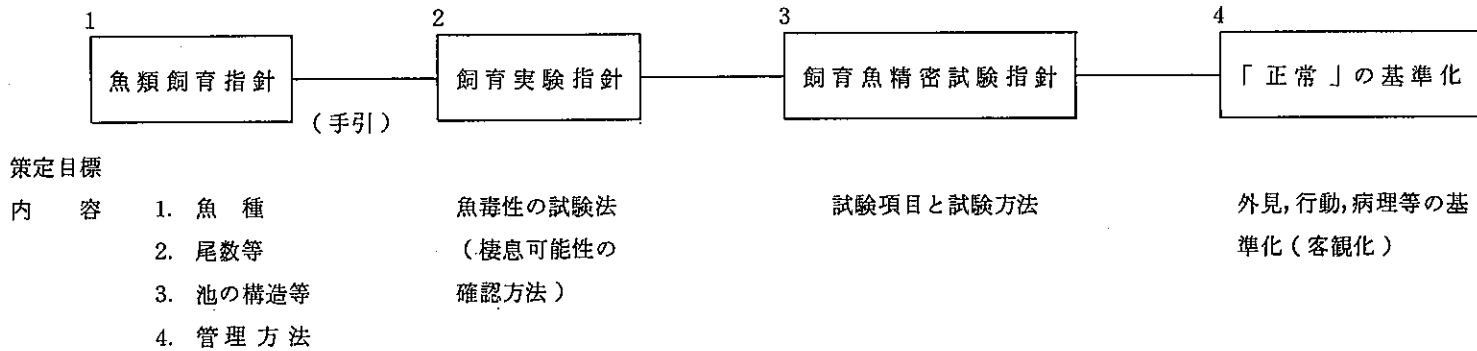
1) 魚類指標導入の目的 ~ 発生源規制における横浜方式

1975年



- ※1. 業種，工場間で排水が異なる。→大気と異なり，総合規制とならざるを得ない。
- 2. 行政指導が科学的技術的検討に対し大巾に先行している。

2) 魚類指標導入のプロセス



1-1-3 工場排水規制における横浜方式魚類指標導入における基本的骨子（田端健二）1977.3.26

魚類指標排水規制基礎研究会のメンバーに加えていただき、これまで試験方法作成のための討論に参加したが、方法作成の過程において試験区、対照区の水温をほぼ同一に調整することが実際上困難なこと、対照区のために大量の飼育水を使用することが工場の排水量規制の点から無理な場合もあることなど、当初予想もしなかった2,3の問題点が明らかとなった。そこで、この段階において、もう一度作成途中の試験方法を見直し、修正すべき点があれば修正するとともに、これから先の論議を行なうべきであろうとの考えに達した。そのため、これまでの定例会の討論における四徹先生、助川所長はじめ諸氏の発言内容を十分にふまえ、それらに筆者なりの判断を加えて、この問題に対する筆者の理解の程度を文章としてみた。誤りなどがあれば指摘していただきたく、今後の討論の上で幾分でも参考になれば幸いである。

1) 横浜方式魚類指標の意義

工場排水は by-product として何が含まれるか予想がつかないので、その規制に際して、特定の項目に限られる化学分析だけでは見落しの不安があり、有害性を総合的に評価できる毒性試験法の導入はぜひとも必要である。排水規制が強化された今日、水生生物に著しく急性的障害を及ぼす事例は少い。問題となるのは生物に慢性的な障害を及ぼす（場合によっては、その生物を摂食した人間にまで危険を及ぼす）成分の存在を生物の長期間飼育によってチェックすることである。このためには、生物が死ぬか生きるかという現象でなく、生物が生存しながらも長期間に何らかの生理的障害が発現したり、生体内に排水成分を異常蓄積するという現象をメルクマールに用いるべきである。

農薬には「農薬検査法」、化学品には「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」など、生物を用いてその毒性をチェックすることが法律により義務付けられているが、工場排水については、毒性という点では野放し状態であり、工場との公害防止協定に排水中で魚類の長期正常飼育を導入した横浜方式の意義は大きい。

2) 基本的な前提条件について

(1) 屋外の池で飼育すること

まず、工場排水は毒性の強さが経済的、経日的に変化することが予想されるので、一定濃度の毒物を連続して流しながら試験する“Standard Method”方式をそのまま利用するには難点があり、毒性の変動を承知した上で、その中で飼育する方式をとらざるをえない。

その場合、実験室的規模で行なう飼育と、屋外池による大規模飼育の2方式が考えられる。しかし、工場側が長期間（たとえば1年間）継続して飼育を行なうとすると、飼育の容易さという点から最適魚種はコイ以外に考えられない。コイは1年間でかなり大型に生長するので、水標規模での飼育は無理で、池で飼育せざるを得ない。また、公害防止協定という点から、工場内部でなく、屋外において外部のものもその飼育状態を確認しあえるという意義も大きい。

(2) 稀釈を認めず、排水そのもので飼育すること

排水そのもので飼育を行ない、稀釈を認めないというのは一見苛酷のように思えるが、横浜市のように汚染源が密集しているところでは、水域での清浄水による稀釈を期待できず、個々の排水そのものが生物環境として正常でなければならない。

(3) 生物をコイに限定したこと

排水の水域での安全性を確認するためには、あらゆる種類の生物を用いて試験を行なうことが理想であるが、実際には不可能に近い。この問題についてはバイオアッセイの分野と同じ割り切り方をせざるをえない。すなわち、毒物規制などに毒性試験を採用する場合、何か意味のある一つの代表的魚種を選定して方法を定め、皆がその目標値の達成に向けて努力を払うということも意義のあることである。前述の農薬検査法も、化学物質規制法における濃縮度試験法も代表魚種としてコイを指定しており、横浜方式のコイもこのような試験の代表的魚種として適当と考える。

3) 守りたい最少限の試験条件

実行段階において種々の制約をうけるであろうが、以上のような有意義な試験を遂行するために、これだけは守りたいという最少限の試験条件をあげると、以下の通りである。

コイを未稀釈工場排水を導いた屋外池で長期間飼育した場合の致死濃度以下での異常、正常（またはそれらに近い現象）を判定のメルクマールにしたい。そのためには、試験区のほかに同様な規模の対照区の池を設けてコイの生理状態を比較することが必要であり、両池の水温などの試験条件はできるだけ同一に保持したい。

もし、実際問題として両池の水温差をある範囲以内に調整することが困難なとき、また工場の総排水量規制から対照区の池に使う水量が制限されるときに対処する基本的考え方は、試験魚の尾数を再検討して必要最少限にとどめるようにし、それらを健全に飼育するに可能な水量を算出し、その範囲でできるだけ水温調整の努力を払い、また対照区の水量がそれでもなお不足するときは、試験区も同一水量に下げ、不足分による飼育環境悪化をエアレーションなどで補うという手段をとらざるをえない。

4) 正常飼育とは、その解釈と判定方法

以上のような試験条件で、如何なる状態のものを正常と解釈するかは大変むずかしいことである。

精密に統一した実験条件下でも試験区と対照区の魚の状態を比較し、試験区の正常、異常を判定することは容易でないから、野外規模でのいわば粗放的ともいえる条件下ではなおさら容易なことではない。両区の水温が若干異なった場合を予想してその判定方法を具体的に述べれば、魚の遊泳状態、色調、生残率などは毒物を知る上での基本的測定項目として重要であるし、水温差の影響はあまり現れないであろう。これに対して、体長、体重などの生長量や、摂餌量をメルクマールとするのは、水温の影響をまともに受けるであろうから、適当ではない。両区の水温がコイ飼育の適温の範囲内であれば、これらから計算した肥満度、餌料効率の方が水温差の影響を小さく押えて、毒の影響をみられるかも知れないと思うが、どうも想像の域を出ない。血液学的検査、病理組織学的検査、排水成分の異常蓄積などのデータが得られれば、排水の毒作用の発現の説明資料として説得力が増す。

要するに、できるだけ多くのメルクマールをとり、飼育完了の段階で、両区の試験条件のバラツキを勘案しながらそれらのデータを検討し、第三者がどのようにみても異常と判断するのが妥当とみなされたとき、それを異常とすればよいと考える。このように判定された異常は排水中の毒物濃度でいえば、真の異常・正常の限界濃度よりあるいは高めに見積られる場合も生じよう。

しかし、その点はこのような試験条件ではやむをえないことであり、将来は真の影響限界濃度を把握できるよう、試験例を集積する努力を払えばよいのではなからうか。

なお、このようにして求めた異常濃度は、多くの毒物では長期の生存限界濃度とそれほど差がな

いかも知れないが、試験の目的が魚が死ななくてもそれよりかなり低い濃度で障害を及ぼす少数の慢性的な毒物の検出にあること、および横浜方式が魚の正常飼育をうたい、それが他にはみられない特徴である以上、やはり魚の生・死によらず、生存魚の生理障害の有無を正常、異常のメルクマールにするという姿勢で望み、そのための努力をした方がよいように思う。

試験項目のうち、血液検査、病理組織学的検査については、工場側で実施するには無理があるように思え、これらは公害研職員が担当するのがよいのではなかろうか。また飼育中はできるだけ多くの人が飼育池を実際に見学し、魚の餌付き、遊泳状況、体色などを観察しておくことも重要であろう。

5) 試験規模の再検討

飼育水量をへらす目的から試験魚の尾数を必要最少限にへらす場合、問題は魚体が最も大きくなる飼育終了時に何尾を残すような試験設計をするかにある。生長量をはかるとなると最低10尾、できれば20～30尾ほしい。これらは生長量測定後、血液、病理組織、蓄積試験に供すればよい。

蓄積試験について、濃縮度試験法では20～40尾のコイを3尾ずつ全魚体分析することになっており、一般の分析感度、コイの個体差を考慮して定めた値らしい。(しかし、この場合は分析対象は1成分のみであるが、排水成分は不特定であり、大量の検体を必要とするかも知れない)。血液検査はバラツキが多く、かなり多量の尾数を処理しないといけないので、あるいは飼育の中期に、中型のコイを大量に間引いて供試することも考えられる。

換水率について、Standard methodは6～10回/日となっているが、この値は冷水魚を考慮しての値と思う。コイと限定してもう一度検討の余地がある。またコイの育っていない秋～冬頃まではできるだけ換水率をしばり、その分、水温調整を厳格にするなどの方法もとれると思う。

池は必要より少し大き目に設計しておき、通常は換水率をしばっておくことがよい。

以上のような骨子でもって、1-1-4魚類飼育指針策定経緯の中で述べたように、飼育方式について1977年10月に「工場等に係わる魚類飼育指針」として策定をみた。この後、試験、判定指針の策定作業を行なった。策定作業を行なう中で、作業の進め方について田端健二氏より、1-1-5導入に向けての検討課題及び進め方について、の項で示すような意見が出された。

1-1-4 魚類飼育指針策定について（鈴木重之）、1977.4

指針作成は「基本条件」は一応案を作成し、「管理」については原案の検討中であるが、防止協定の期限が52年12月15日であることから指針の公表は遅くとも6月初旬とし、池の造築を8月初旬に終らさねばならない。このような行政上の日程に合わせるため、指針(案)は以下の問題点を残したまま一応の結論を出さなければならなかった。

問題点を大別して以下の2点にまとめる。

1) 池の構造に関連して

○魚類による排水監視は常時かつ長期の監視であるから流水方式で、途中の検査を考慮し一定数の尾数を必要とする。またへい死等の原因が工場排水の特異性によるものであることを証明するため工業用水による池を対照とする。

○上の前提条件から、尾数100とし、これから池の大きさ10 m^3 で通水率は6～10交換/日すなわち60～100 m^3 /日とした。

(1) 水資源節約の意味からクロズド化を指導しているのに、60～100 m^3 /日もの工水を使用させることは、たとえその再利用をできるかぎり指導するとは言っても矛盾したものである。

(2) 対照池と排水池の温度はできるだけ一致させるべきであるが、60～100 m^3 /日の水量では非常に困難である、温度差が大きのまま実施するのでは対照区設定の意味が無くなってしまう。これは結果の判定に重大な影響を与える。

(3) 池の規模を縮小してしまうと魚の数が少くなり判定基準が単に生死になるが、これも外的条件(天候等)の影響を受けやすくなり正確でなくなる。

2) 管理に関連して

管理の方法は結果の判定に重大な影響を与えるもので、特に工場側にどの程度の観察を行なわせるかが問題となる。これに関連して飼育結果の判定基準に対する考え方が問題となる。

(1) 基準は全市一律とし、現在施行されている物理化学基準と同様にすべきである。すなわち、生死、体長、体重、色調、病変(外的、内的)等多数の項目に基準を設定しこの項の一つにでも基準を超えるものがあれば違反とする。これは、現水質基準においてCODのような項目一つでも基準を超えれば違反と言う考え方であるが、この場合、対照区設置の意味がなくなることで、現段階で全市一律基準の設定が可能であるかと言う問題がある。例えば、全国平均、全市平均あるいはこのような飼育における平均としての体長の増加率の巾が現時点で決定できるか。

(2) 生物を用いて監視を行うことの意義はCOD、CN等の現在の規制項目だけでは安全性が確認できないからであり、すべての物質に対し完全な化学分析ができれば、生物検定を工場排水規制に持ち込む必要はない。したがって、生物を用いる方法としCOD等を用いる方法と全く同一視することはできない。すなわち、化学物質は最終的に排出量をゼロにすることが目標であるが、体重の増加率は本来的に生物の個体間に差があるもので、たとえ基準に一定の巾を持たせ、それをできるだけ小さくしようとしてもゼロにすることは無意味である。生物は体長が標準の範囲にないからと言ってそれだけで異常とは言えず、総合的判定を必要とするものである。また一律基準を設定できる技術的段階ではないので、少くとも5年、10年の範囲では対照区との比較により判定すべきであろう。この考え方では、現在のところ判定項目は生・死、明らかな病変程度となってしまう。

上記の他にも細部に技術的問題は残るが、前述のように行政上の日程からみて、ある程度の割り切り方で進行させ5月末から6月初旬に公表するべきであろう。

1-1-5 導入に向けての検討課題及び進め方について (田端健二) 1979.4.10

1) 何をはかるうとするか(どんな項目をみるのか)の定義づけが必要

既知の単純な有害物を除き、未知の潜在的危険物質の測定が目的か? そうだとすると、どこまで除くかの基準が問題となる。

それとも既知物質も含めて有害性を見ようというならば、最低限配慮もしくは調整すべき項目を明確にする必要あり。水温、溶存酸素ぐらいまでか…

2) 正常飼育(正常とは何か)を定義・明文化する。

定義・明文化するに際しては、科学的に論旨が通っていること、実際の測定項目を参照して矛盾しないことであるが、この件の討議にまともに時間を費すよりは、むしろ測定項目を定めてから、その説明として作文した方が良くかも知れない。

生物学的なつめと同時に、従来のオハイオ州その他の水質規準などの魚にとって正常な水とは何かの記載文を充分に参考にする。

3) 正常を測定する試験項目の選定について

(1) 選定条件

イ) 科学定に正しい第1条件で、特に相手に対する説得力のある項目であること。(だれでも認めてくれるような)

ロ) 工場がやることを原則として簡易であること。

ハ) 試験項目数は、試験的検討段階ではなるべく多くとるとしても、最終段階ではあまり多くなく、数項目にしぼること。項目が多いと労力の点および、判定基準化が難しくなる。

ニ) だれがやっても再現性があり、エラーの少いことが望ましい。行政的な協定であるから、特にこの点に留意すべき。したがって、測定値が季節的に変動したり、毒物の影響以外の因子で変動する項目は好ましくない。たとえば、魚がおどろいただけで変動するような項目は好ましくない。

ホ) できるだけ、対照区との比較において判定できる項目であること。

なぜなら、各工場に対照池を作らせた面をいかすことが必要。ただし、水温などの試験条件が対照区と排水区で異なる場合は難かしいのでは。

ヘ) 試験途中には、できるだけ魚をつぶすことなく、集団で測定できる項目が多い方がよい。生残率とか成長とかは、なるべく中間段階の測定をふやし、血液や組織のように魚をつぶす項目は中間1回、最終1回位では。

(2) 項目選定作業

項目の検討は、あらたに正常測定の手法を実験的にすすめるというのではなく、なるべく既成のものを利用したい。(調査、検討ぐらいの段階)

イ) 専門家からのヒアリング、文献調査

整理にあたっては、総学門的に実験室規模で行なった文献が多く、この魚類指標の特異な条件(野外で非専門家による粗放飼育、対照区との条件のちがいを)を充分考慮に入れて、適切に取捨選択する必要がある。(Behavioral Toxicology and Fish, Fish Physiology, J. Fish Res Bd. Canada, 藤谷 超 内水研報17号, 尾崎久雄 魚類生理学講座, その他)

ロ) バイオアッセイ公定法、水質基準などを参考にする。

Standard method

水産用水基準

その他

ハ) 毒物と血液との既往文献の整理

各測定項目について感度、再現性等を吟味する必要があるのではないか。その中で指針にあるものを選択する。

血液 — 赤血球数、大きさ、抵抗力、比重

Hb 量、色素指数、ブライス—ジョーンズ曲線など

血液化学 — 血清総蛋白、A/G比、血清糖量、酵素活性 (GOT, GPT, LDH, ACE etc)、無機代謝 (Na, Ca, Mg)

(3) 考慮に入れるべきこと

イ) 厳密におこなったバイオアッセイでも LC 50 の $1/10 \sim 1/100$ 程度が有害性証明の限界である。

ということは、通常使われている方法は、何を indicator としてもあまり大差がないのではないか。ただし、次のようなことは判明している。全生活史を通したバイオアッセイ、とりわけ卵、稚魚期の生残、生長が鋭敏である。しかし、横浜市的方式では、卵稚仔魚は使わない。病理組織、血液生化学等も一般的に見ると生長よりも感度は鈍い。

毒物によっては、生長等に影響なしに、かなり低濃度で蓄積することが多い。この場合、生物学的には障害が証明できなくても、化学分析すると異常蓄積がある。正常の定義のとき考慮する必要がある。

以上を考慮すると、病変魚を途中で除くということで正確な測定は困難であるが長期間飼育後の生残率は重要である。

致死濃度以下を測定するものとして生長、摂餌割合、各内臓と体重との比 (比重量、特に比肝重量)、生理、生化学、行動、病理などが考えられる。生長については、対照区との水温のちがいを考慮した著しい差、また、蓄積も項目として重要である。

ロ) 魚種はコイに限定したけれども実際にはもっと鋭敏な魚もいるし、項目もいろいろと考えられるわけである。しかし、どちらかという、あくまでも一つの協定であり、互いにそれを守ることに意義があり、ある程度の割り切り方が必要ではないか。検出限界、感度よりも定められた方法で行えば、どこ工場でも必ず、決まった値が出るということが必要と考える。

しかし、A社のように、pH 6.4 に下げてアンモニア 200~300 mg/l のたれ流しは検出限界が高すぎる。

ハ) 具体的な試験法として、どこまで公表し、どこまで内部資料としておくかも問題。

公表する内容は学問的な正確さと説得力が必要である。内部資料として素案だけは早めに作成し、現場でのデータでの裏付け等、充分練り上げる必要がある。

1-2 導入にあたってのいくつかの検討

1-2-1 検査項目，検査方法についての検討（畠中潤一郎，樋口文夫）

先の田端先生の意見をふまえて，いくつかの検討をおこなってきた。

そのうちの一つは，ある生物を見ていく場合に，どのような視点とどのような水準から捉えていけるかというようなアプローチの全体概念についての共通認識を持つことで，選定する項目の位置づけを明確にするとともに，他の項目との関連や今後の項目の拡充との関連でも総合的に科学的に評価していく上で必要ではと考えられた。以下に概念図について述べる。

指標魚による排水評価を行なう上での評価視点・水準の概念図

概念図は図1-2-1に示すとおりで，以下に概念図の説明を各視点別に細胞レベルから --，
 個体，集団レベルの順でおこなう。

行動の視点			⑦	⑪
形態の視点	①	④	⑧	⑫
発生上の視点	②	⑤	⑨	⑬
生理上の視点	③	⑥	⑩	⑭
	細胞	組織 器官	個体	集団

Charles・E・Warren, Biology and Water Pollution Control,
 W・B・SAUNDERS・CO・Philadelphia・PP434(1971)を参考に作成

図1-2-1

- ① 細胞の形態・細胞内器官の構造・変化などに関する問題
 固定，染色，破砕，分画といった細胞学的あるいは生化学的な操作が必要になる。
 例) 核，染色体，小腔体
- ② 発生を細胞の行動の面から問題とする。
 細胞の空間的相互関係，細胞の大きさ，細胞の増加等をみる。
- ③ 細胞の生理機能について問題とする。
 細胞の成分，酵素活性等の定量化といった細胞化学的な取り扱いが必要になる。
 例) アルカリフォスファターゼの活性測定など
- ④ 細胞の組織的特徴についての形態上からの問題，あるいは器官の肥大，委縮についての問題。
 例) 肝臓内の脂肪組織の増大，腎の委縮
- ⑤ 組織・器官形成に関する問題
 たとえば，発達度の比較。相対成長（器官），器官内の組織形成の問題
 ④形態の観察，②細胞数，大きさなどの区分と観察の段階では区別しなくてもよいと思われる。
- ⑥ 細胞の組織学的な特徴を生理面から扱う。あるいは臓器の機能を問題とする。
 例) 肝機能

⑦ 個体としての行動

例) 個体としての異常行動など

⑧ 個体の形態としての特徴について

例) 外部形態の異常, 脊こけ 骨曲がりなど。相対成長, 肥満度

⑨ ⑤の相対成長(器官)などと区分しにくい, 成長段階ごとの器官・組織の相対的關係をみる。

⑩ 成長量など, 個体の生理的諸機能の集積として評価する。薬剤耐性の大きさなども入る。

⑪ 集団としての行動

群れ, 順位, なわばりなどの面からの評価。行動の類型化がどの程度できるか。

⑫ ①, ④, ⑧で得た結果を数値化して, 統計学的な立場から形態の問題を扱う。

例) 外部形態異常出現率など。平均値, バラツキ, 有意差

⑬ ②, ⑤, ⑨で得た結果を何らかの形で数値化し, 統計学的な立場から問題を扱う。

⑫より, 情報量の扱いで難しい面がある。

⑭ 集団の成長, 耐性などを扱う。

平均, バラツキなどの統計量による表示, 有意差検定

この概念図の利用にあたっては, 各視点とレベルのすべてを網羅した検討が総合的な見方として望ましいのであるが, 実際上はこれらすべてを網羅するというのは困難であり, これらの中から, 現時点で実施可能なものと, 今後の研究を必要とするもの等に整理する必要がある。

そこで, 次にこれら多項目について, ①科学的に正しく相手に対し説得力のある項目かどうか。②工場で実施することを原則として簡易であるかどうか ③再現性があるかどうか ④対照区との比較において判定できる項目であるかどうか, の面からの検討を別表1-2-1に示すような資料を作成し検討を進めてきた。

表1-2-1 判定方法の検討資料(1)

注) ○:よし, △:ややよし, ×:よくない 161

検査法	項目	目的	評価法	問題点	検査法の評価
① 行動学的 検査	摂餌行動 遊泳行動	魚の健康状態を判定する。また感覚器官、神経系、生理学的障害などをみるための基礎的項目	行動学的類型分けによる評価 群および個体 正常状態との比較(対照池との比較)	環境条件, 管理条件による影響 行動の類型分けのむずかしさ 生理学的側面からのうらづけがない。	簡易性はあるが再現性はあまりない。 他項目との比較が必要。 ○ △ (簡易性)(再現性)
② 成長量	体長, 体重 増重量 摂餌効率 比成長 相対成長	群, 個体の健康度を総合的に評価する代表値となる。生理学的障害へのアプローチともなる。	正常な成長パターン, 成長量との比較(対照池との比較)	環境条件, 管理条件による影響 測定方法の検討(マスイ等の影響) 個体差が大きい(測定値のとりあつかい) 生理, 生化学的側面からの検討が必要	簡易性はあるが再現性に欠ける。 他項目に比べ数値化しやすく, 安定したものといえる。 ○ △
③ 生残率	死亡魚の カウント	排水の有害性の程度をみる。	対照と排水池との死亡尾数による比較	生物的因子と化学的因子との相互作用 急性, 慢性試験が別に必要	簡易性はあるが, 他関連試験をとまなう必要あり, ○ △
④ 生理学的 検査	血液系 循環系 呼吸系 肝機能 腎機能 筋肉・神経系	排水中に含まれる化学物質の有害作用を生化学的レベルで検索する。 肝, 腎機能および副作用としての血液障害を通じて有害作用をみる。	血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット等の正常値にもとづく評価(対照池と排水池)	環境条件, 日変動, 季節変動, 生理的変動, 測定誤差等に影響	簡易性はややない, 再現性にやや欠けるが, 健康状態を知るよい指標として用いられている。 △ △

表1-2-1 判定方法の検討資料(2)

検査法	項目	目的	評価法	問題点	検査法の評価
⑤ 生化学的 検査	蛋白質 非蛋白性窒素 糖 脂質 酵素 ホルモン 無機物	血液中の特定物質の増減から、特定器官、特に肝、腎機能あるいは物質代謝における異常の有無を検索する。	血清タンパク等の正常値にもとづく評価(対照池と排水池との比較)	生理学的検査と同様な問題点、分析技術の開発	簡易性はなし、再現性に欠ける。 実験的に用いられており、実際面においては未知の分野が多い。 × △
⑥ 解剖学的 検査	内臓の色調 形、硬軟さ 大きさ、もろさ 重量 比臓成長	臓器の形態変化をみる。組織学的検査の基礎となる。	正常な臓器との比較による評価 同時に対照、排水との比較	個体差が大きい。 正常な臓器とは何か(経験的なもの見分の必要性)	簡易性はあるが、再現性に欠ける。 経験的な物の見方が必要、個人差 ○ △
⑦ 組織学的 検査	器官 細胞	臓器内の構造変化、細胞の形態、変化等をみる。	同上(肝、腎臓を中心に)	測定技術のむずかしさ 生物的、化学的因子の相互作用、その境の決めがたさ。 症例研究の蓄積(正常な臓器)	簡易性に欠ける、再現性はやや欠ける。 データの蓄積をもたねばならない。既存のデータの取替 × △
⑧ 蓄積性 検査	魚体 器官	化学物質の臓器内への蓄積性をみる。	対象事業所排水の特異性、それにもとづく対照と排水池との比較	未知な化学物質、多種類の化学物質の相乗作用、それらの分析方法の確立	簡易性にやや欠ける、再現性はよい。 ただし、未知物質の分析方法等、技術上の問題点を解決することが前提 △ ○

1-2-2 フィッシュチェックに関する学識経験者の意見の聴取

(水尾寛己, 樋口文夫, 福島 悟, 畠中潤一郎, 斉藤治子)

評価指針を作成するにあたって魚飼育の方法や検査・判定方法等について種々の問題点が山積しており、これらの問題点については以下に質問の形で示す。これらに対する研究会の先生方のそれぞれの見解を1-2-3, 1-2-4に資料として掲げた。

1) 飼育に関して

魚の飼育条件は、試験終了時の検査結果や評価に大きく影響すると考えます。つきましては、下記事項についての御意見をお願いします。

- イ) 試験に用いる魚としての適正な条件は、何ですか。
- ロ) 飼育開始の時期としていつ頃が良いですか、又、開始にあたって予備飼育は必要ですか、必要な場合、どの程度の期間を考えたらいいですか。
- ハ) 試験開始に先だって、試験魚として適正を図るための選別はどのように行ったらいいですか。
- ニ) 試験期間中の給餌量をどのように条件をそろえたらいいですか。又、配合飼料を用いて問題はないですか。
- ホ) 試験期間中に病魚が発生した場合に、①薬浴を行う、②除去を行うといった対応方法が考えられますが、病魚の種類、状況等により対応基準を作る必要はないでしょうか。又、病魚が発生した場合、程度により試験を1時的に停止、全面停止をする必要があると思いますが、その場合の基準をどのようにしたら良いですか。

2) 判定方法に関して

- イ) 飼育終了時において対照区の魚が対照魚として評価するための基準は、どのような項目を用いてどのように規定したら良いですか。
- ロ) 試験期間中に病魚が発生した場合、どのように対応したらいいですか。
- ハ) “ ”中に大量死のような事故が起きた場合には、どのような検査が必要となりますか。
- ニ) 試験魚の異常の原因が生物性なのか、無生物性なのかをどのような方法を用いて判断したらいいですか。またその限界について。
- ホ) 成長、形態、血液……等との関連性についてはいかがですか。また、総合的に判定するにはどのような形でおこなったらいいですか。
- ヘ) 組織学的検査についてですが、技術的な難かしさと、時間を要することから、なるべくなら簡易な検査項目にしぼりたく考えておりますが、魚の健康評価において、組織学的検査は省略できないでしょうか。

3) 検査に関して

(1) 生・死の検査について

- イ) 死亡魚の判定基準はどう定めたらいいですか。
- ロ) 判定項目として、死亡率、生存率のどちらを用いたら良いですか。
- ハ) 取扱いミスからくる傷害魚、及び不明魚を判定においてどのように扱ったらいいですか。
- ニ) 生残率、死亡率でどのように評価を行うといいですか。

(2) 成長の検査について

- イ) 成長は生理学的検査や組織学的検査との関連でどのように位置づけたいですか。
- ロ) 成長量で評価を行う場合において、対照区と排水区の水温差についてどう対処したいですか。
- ハ) 給餌条件により成長量は違ってくると思いますが、成長量で評価を行う場合、給餌条件をどのように設定したいですか。

(3) 血液検査に関して

- イ) 生理状態の評価はHb, Ht, RBCあるいはどれか単一項目で可能でしょうか。またどの程度まで評価できるでしょうか。
- ロ) MCHC, MCV, MCHによる貧血の分類による評価の有効性、あるいは工場排水、環境との関係は把握されるでしょうか。
- ハ) 血液検査と他の項目(成長量, 組織)との関連性、あるいは位置づけをどうしたらよいでしょうか。
- ニ) ハ)との関連で総合判定, 単一項目による判定等の判定方法はどちらが有効なものとなるでしょうか。
- ホ) 判断基準は平均値による差の検定でみた方がよいのか、対照区の正常範囲を含めてみた方がよいのか。
- ヘ) 対照区の基準化は必要でしょうか。D社の例で見られるように対照区が低くでたとき、どう判断したらよいでしょうか。
- ト) その他

(4) 遊泳行動について

- イ) 検査項目として遊泳行動は適当と考えられますか。
- ロ) 適当と考えられる場合、行動異常の判断基準についてコメントをおねがいたします。

(5) 体力テストについて

- イ) 窒息死の所要時間でみる体力テストは検査項目として適当と考えられますか。適当な場合、どのように評価したらよいでしょうか。
- ロ) 窒息死試験以外の適当な検査はありませんでしょうか。

(6) 蓄積について

- イ) 蓄積検査の目的についてなのですが、目的として現行規制基準の上乗せ基準として考えるかそれとも、排水中の有害物質の生物体の毒性に主眼を置いた考え方をしたいですか。
- ロ) 蓄積性の項目を盛り込む場合、成長、生理等生物体の評価と同列の形で入れたらいいか、それとも別として独立した形で入れた方がいいですか。
- ハ) 分析項目についてですが、当面は有害金属、PCB等、現在蓄積性について問題となっていて一定程度以上の報告等があって周知のものに絞るべきですか。

例) Inorg-Hg, Org-Hg, Cd, Pb, PCB, As, Cr ……等

- ニ) 判定方法についてなのですが、⑦水質汚濁防止法のように一定の基準値を上回らないことによる方法、①対照池と比較して、設定した有意水準で差があらならないとする方法、②対照池と比較して、その差が一定の基準値を上回らないこととする方法、③その他が考えられるわけですが、どの方法を用いたらいいですか。

1-2-3 判定指針についての考え方

1-2-3-1 魚類指標による工場排水規制における判定指針についての考え(その1)

(四竈安正) 1981.2.2

1) この指針の本質

指針というからには、判定の手引となり、方針を示すものでなければならないはずであるが、この場合には、簡単に片付けられない所に本質的な意味がある。言うまでもなく、事業場・工場は仕事の種類も規模も実にさまざまである。それに応じて廃棄物の質・量の状態も千差万別である。従って放出された環境の被る影響もさまざまである。分析的観点からこれに対応することは当然きわめて重要であり、理化学的検査の充実はそこに根拠をもつ。しかし、これには測り得る種類・程度その他少なからぬ制限・限界があることは容易に推察され、また、少くとも現時点においては、研究の結果もそれを示している。これを補うのに役立つのが生物指標による生物試験、すなわちここでいうならばコイという一定の生物(指標生物)を用いて、よく生きられるか?病むか?死ぬか?をためしてみる方法である。一見、あまりに素朴な試験方法のように思われて、頼りなくさえ感じられる面がないでもないが、一番大切な事実(生命への影響)は結局これが握っているのだから、いかなる分析的研究もこれに立脚することなしには、十分な価値をもち得ない。飛行機事故で唯一人の赤ん坊を除いて全員死亡という事実と直面する時、これを納得しない人はいないであろう。

或る工場排水が、一見した所、色も、臭も特別でなく、口に含んでも特別な味を感じない。理化学的検査の結果ではこれという異常は指摘し難い。極端に微量の物質については何とも言えない。

その水にコイを飼っても、著しい異常を示さずに泳ぎまわっている。しかし、うまく表現できないが、何となく、変だと思えば変なような気をする。飼育指針(1977・工場等の排水に係る魚類飼育指針)に従って対照区も設けており、ここに新しい工水(まだ工程に採り入れてないもの)を導入し、一方試験区に工程を経た排水を導入して前者と比較している。共に供試尾数は約100尾、斃死には特に注意するが、供試魚数がこの位になると、全部が一樣とは行かず、死んで初めて、それに気が付くということも起り得る。斃死は常識的希望から言っても肯かれることとして、新しい工水には少く、排水に多いと予想される。しかし、それが簡単にそうは行かない。同等に、或いは逆に、であったりする。これもさらに長年に互ってみれば(微速度で観察すれば)予想に一致するようになると思われるが、限られた短期間の現象では、誤った理解に陥ることもままたり得る。

また、排水中の老廃物質のコイに対する作用のし方も、考えてみると、なかなか一筋縄にはいかない。すでにそれがコイに接触する以前に何らかの変化が起る場合もあり得るし、またコイの体内に取込まれた後に変化する場合もあり得る。物質相互の相乗、拮抗による変化の増幅も当然考え得る問題となろう。そのような物質の存在は、もちろん限定された理化学的検査の対象からこぼれ落ちる可能性も低くない。およそ生体に対する物質の作用を見ると、量と質と両面にかかわりがあることは周知の通りである。微量でも大きな影響をもつものも少くない。理化学的測定にひっかからないでも、生体の微妙な“ふるい”にひっかかって、顕著な反応を現わすことが少くない。

そして、後者の認識に役立つのがコイに現れる種々なる異常、すなわち、行動の異常、形態の異常、機能(生理)の異常、化学成分の異常などの究明である。これはさらに追求を進めるとき、生物(コイ)の遺伝学的平衡の場に、そしてさらに生態学的平衡の場にまで及ぶ(四竈安正,1972; 生物指標論 上, 調査季報35, 1979; 生物指標論 中, 魚類指標排水規制基礎研究会刊, 1981

；生物指標論，下の1，以下続刊の予定）。

これを要するに，この指針の本質は，排水が周囲の生命に及ぼす影響を慮り，特に人命に及ぼすそれを，可能な限り，合理的に予察しようとするとき，人と同じく脊椎動物の一員たるコイ（指標生物）を排水中に置いてその“生き具合”を診（み），指標を判定して，排水の水質の適否判断の根拠としようとするものである。

2) 指針の実際

指標生物が環境に応じて指標（さしる）してくれる徴候（生き具合）を適切にとらえて，環境（排水）の性質を判断する。目をつぶれば何もとらえられない。開けば水と魚が見え，知識が増すにつれて，際限なく複雑に織りなす自然の姿が顕現する。その概要を綴りつつあるのが生物指標論（上中下の1,2,3……未定）である。

従って，生物指標論は全体として判定指針の土台であることを忘れてはならない。その上で類似の事業場排水には類似の生体反応を予期することも，或る程度許されるであろうから，それぞれに応じて，できるだけ簡便で確実な判定方法を追求すべきであると考え。但し，誤解してはならないのは簡便という意味である。スイッチ一つ押せば見事な画像と音声を発するテレビは無智な者には簡便だけ思われるが，その修理・改良に挑む高度の技術者や科学者にとっては甚だ複雑と映ずる。

簡便・円滑の陰には常に複雑な基礎研究と過酷な訓練があることを忘れてはならない。

(1) 指標魚についての規定

判定指針の第1は指標魚についての規定である。年令のそろったマゴイの稚魚を用いること。イロゴイは用いない。イロゴイは泳いでいるとき，一見してわかり，観察に便利のように見えるが，特にその行動上に，マゴイとは重要な差異があるらしいからである。また，飼育指針に従って，購入，運搬，発病予防のための薬浴，魚体の大きさの選別，遺伝病・奇形・炎症（特にイカリムシやウオジラミなどの寄生や白点病など）・腫瘍を含む病傷魚の除去，一定期間（餌付けに約2週間）の予備飼育を行う。

(2) 試験池についての規定

試験区，対照区各1面を設ける。他は飼育指針に従う。なお，池の日照や水温に差が著しいことは望ましくないが，判定時の条件顧慮および年毎の両区の交替などを考える。

(3) 事故対策

大量死などに直面した時には，工場は原因の明不明にかかわらず，直ちに横浜市公害研究所に電話連絡して，適当な対策の指示を待つ。検死後，標本保存（死魚外観および開腹カラー写真撮影，死魚本体の10%フォルマリン液浸，皮膚・鰓・内臓各組織片の10%中性フォルマリン液固定，もし生魚があれば血液塗抹乾燥固定標本），死魚の隔離，生残魚の検討を行う。

(4) 試験項目，方法ならびに結果の考察

すでに，1)この指針の本質の所で述べたように，指標魚コイの現わす諸徴候（指標）をとらえて，排水の水質適否判断の基礎とする種々の試験の項目，方法ならびに結果の考察を示せば下の如くである。

イ) 斃死

何でも物を取扱うには修練が要る。なれ，一つである。なれていない若い父親に抱かれた赤ん坊はいろいろと不自然な環境に置かれていて，年寄りには気が気でない。魚も運搬の時や，池

の水換えの時、同じ目にあっている。不注意、不行届の後、打撲がもとで死に至る例は意外に多い。普通は事後2週間の斃死の多くがそれである。

一般的な予想に反して、新しく導入され未使用の工水を入れた対照区の方が汚れたはずの試験区(排水区)より余計に斃死魚を出した場合には、何らかの病原生物が関係していることを考慮する必要がある。排水中の老廃物が発病予防に貢献していることも皆無とは言えない。留意しておくべきである。急激に起った大量死にはHard wareの事故が多い。原因ははっきりしていることが多い。

比較的散発的に死ぬ場合、これが油断できない。まして、斃死尾数が対照区とあまり変わらないような場合には、精密な指標の検討が必要である。魚の行動・形態・機能・化学成分などの異常を検索することで、それぞれ専門家の援助を求める。

ロ) 行動の異常

四竈安正, 1979; 生物指標論 中 4-3-1-2-2 行動の異常 P 4~11 参照

ハ) 形態の異常

四竈安正, 1979; 生物指標論 中 4-3-1-2-3 形態の異常 P 11 参照(目下なお研究は継続中。結果は続刊の予定)

四竈安正, 1981; 生物指標論下の1, 魚類の健康評価に関する研究(1)には、形態の異常として(1)遺伝病に基く形態の異常をとりあげ、さらに付録1として、健康なコイの肉眼観察(外観および内観)に及んだ。

さらに、四竈安正・磯貝純夫・磯貝三重子, 1981; 生物指標論下の2, 魚類の健康評価に関する研究(2)において、付録2として、健康なコイの光学顕微鏡による組織学的観察の結果を述べた。同じく下の3以下においては、各事業場別にコイの病理組織学的観察の結果を述べる予定である。(生物指標論の下巻には、なお引続き (2)寄形に基く形態の異常, (3)発症に基く形態の異常(寄生虫病との関係が大), (4)腫瘍に基く形態の異常がとりあげられるが、本指針には入れない。))

1-2-3-2 判定指針についての考えについて(その2)(田端健二)1981.1.20

質問事項を拝見し、種々な困難な問題を含んでいることが再認識されました。工場側の飼育の現状をふまえ、判定指針について次のように考えます。(この項は質問事項の回答にはなっていませんが……)

現状に対応しうる完璧な判定指針を作ることは非常に困難(少くとも私には)に感ずる。まず、できる範囲内の判定指針を作り、それは、判定について根本的、基本的考えを示すもの、細部の規定については、①現状の知見でははっきり言えるもの ②現在の公定法などから引用できるもの ③現状ではPendingとしておくものをはっきり明示し、暫定的な部分は研究の進捗に伴い、順次改訂していくとしたいかが。そのような抽象的な暫定的な指針は不必要との意見もあるが、やはり基本的な考え方が定まっていないと、個々のケースについて今後考えて行きにくいように思われ、一応基本的な判定指針(案)作成の努力が必要と思えてならない。(例えば、対照区の意義、病魚発生後の取り扱いに対する考え方、試験法の意義など)公表するかどうかは別問題としても。

判定指針作成という観点に立つと、基本的には飼育技術の拙劣に伴う判定の不明確さをどうするかというのが現状における大問題である。この点について、私の現在考えていることは次の通り。

研究会の討議の経過として、排水環境の加わらない対照区と、これの加わった排水区を設定、両区の魚の状態の差から排水の影響をみる。そして、排水による影響以外は、魚を健全な状態に保つとの方針から、完璧な「飼育指針」を作成した。これに従えば、だれにでもコイが十分に野外飼育できるというテキストである。もちろん、野外環境下であり、これに従っても魚病の発生などさけることはできないが、現在は開始間もない、いわば過渡期であり、技術拙劣はやむをえないと思う。

いずれ近い将来に、生産第1主義で過密養殖する「養殖業者」のレベルよりは、「観察魚飼育マニア」に近い線で、飼育環境や魚病の発生をおさえられるのではないか?(いささか甘い考え方も知れませんが、私が見学した岡山のキリンビールなど全くこのレベルに達しています)

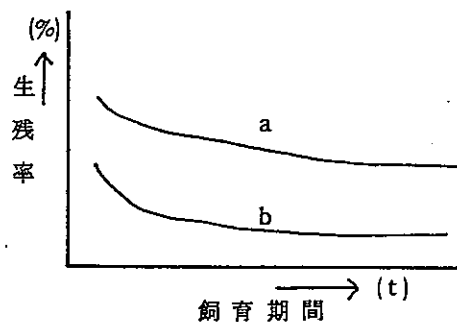
あまり現状に基づいて、飼育技術拙劣を前提とした判定指針は作らない方がよい。作るとすれば、対照区の生残率(死亡魚、病魚を除去した) a%以上の結果についての判定指針とし、aは研究会で討議の上、かなり大きな値としておく。飼育途中でa以下となった場合、それが極端に小さければ(b%以下)、飼育を中止するが、あまり小さくなければ(a~b%)、工場側には飼育技術の向上に努力してもらいながら継続し、結果の判定は判定指針の基本的考え方を参考にしながらケース・バイ・ケースに対処する。

以上の方針でいくと、先の質問事項について次のように考える。

1) 病気の問題について

病魚は発見次第すみやかに除去する。魚病の発生が著しければ、排水区、対照区とも、同時に同条件で薬浴・消毒などする。というのか基本方針のように思いますが、病気の種類や程度によりどうするかという基準を作るのはどうでしょうか。複雑すぎて対応ができるか問題?

2) 飼育の中止・継続の問題について



図

飼育期間 t の函数として a , b をみる。

t が 2~3 ヶ月以上続いたあとの事故であれば、1 年間という期間にこだわることなく、その段階で結果の判定も行なってよいのでないか。中途停止の場合、基本的には養魚機関からの魚の入手ができ次第、再開すべきであろう（場合によっては、それから 1 年間続ける）。再試験には、全く新しい魚を用いるのが指針としての原則であろう。

3) 生残率について

この試験の基本的な考え方は、あまり短期間の急性毒をみるのが主旨ではなく、なるべく長い期間、魚を飼ってもらい、長い間に徐々に死んで来たり、異常が出てくるような慢性毒を見出すことが目的である。

この主旨からして、池中に病魚を発見したときは、できるだけ取り除く方針でのぞみ、これがために、死亡率が正しく求められなくとも（同様に生残率を）、仕方がないのではないか。

除去魚、死亡魚、不明魚を除いた残存率で示したらどうか。

4) 成長・生理・組織の問題について

Long-term toxicity bioassay における生残、成長、再生産に及ぼす影響限界濃度は、MATC (maximum allowable toxicant concentration) としてその意義が認められ、公定法にとり入れられている。既往データの比較においても、MATC が生理、組織の限界濃度より高いということではなく、むしろ鋭敏な傾向にある。

ただし、本試験法のコイは、ある程度大きくなってからの一年間の成長をみており、再生産は試験していない。そのような大きなコイの成長に対する毒物の影響のデータは今までだれも持っていなかったこと、公研サイドで 2,3 のデータが出た段階で、この段階のコイの成長の毒物に対する感度は鈍いようである。このくらいの大きな個体レベルの反応は細胞レベルに比べて鈍くなるであろう。

この試験法では感度よりも再現性を重視すべきであると思うが、感度があまりにも鈍いのでは話が別問題である。もう少し、大きなコイの成長の感度データを蓄積する必要があるだろう。

現状では、成長、生理、組織と並列にし、それらのいずれかに毒物の影響があっても、当然のことながら影響ありと判断すべきであり、われわれの実験室のレベルのバイオアッセイの仕事も実際にそのようにやっている。（MATC の中に、生理、組織その他の影響限界値も含めている）

以上の内容に従うと、魚が排水中で長期間飼えることの安全性アピール的性格が強く、これにより有害排水を取り締まるという性格は若干弱まるように思えます。（残存率、致死濃度以下の安全性判定 etc ）、私はそれはそれなりで、大きな意義があると思いますが、先の(1)~(4)の考えは、飼育の現状と技術レベルを勘案した上での上さし当りの判定指針作成に対するあくまで私見であり、当然のことながら、皆様方の御意見優先ですので、よろしく検討下さい。

5) 蓄積について

分析項目は列記された項目程度ということでやむをえない。他に工場ごとに特長のある有害成分で蓄積性のありそうなものが予想できれば、その項目も加えられれば興味深いと思う。

この種の飼育を行って蓄積を調べた場合、それが工場排水の影響か工水から由来したのか、エサから由来したのか区別できるだろうか。対照区と比較すれば、工水、エサ由来は差引けると考えられるだろうか？

例えば、有機物の多い排水中で魚を飼育する。このため排水区の方が対照区より付着藻類など多くなる。コイがこれを食べた結果、蓄積物質の水中濃度は排水区、対照区同一（排水由来でなく工水由来）であっても、排水区は付着藻類由来のフードチェーンが加味され、魚体内蓄積が多くなる……などということが生じないか？

判定方法として、対照区との差で論ずることはなかなか困難ではないか。

⑦は食品としての危険性として説得力がある。多くの健康項目について食品としての魚肉中の含有量の安全性の目安となるような基準値があればそれを引用したい。（国内はあまりないが、FDA関係ではないか？）

しかし⑦だけでは、対照区の魚もそうだったり、養魚機関から入手した段階ですべてそうになっていたりしても困る。他に⑧をうまく組合せたらどうか。

⑦の値を採用した場合、濃縮係数から逆算して水中濃度がいくらと予想されるか。これがあまり高くなったのでは、上のせ基準的意味がなくなる。⑦の値決定のとき要検討事項である。

生物学的手法では障害と認められなくても、分析してみると蓄積物質が幾分多くたまっている。——→魚類が正常飼育でないと判断する。

正常の定義を拡大する必要あり——生物学的手段では異常が認められなくても、化学分析にかけた場合、食品としての危険性がある。？

蓄積は規制手段として重要であるが、要は項目を何にしぼるか、基準値をいくつにしぼるかの両点にかかっていると思う。その設定を誤ると莫大な労力がいたり、ナンセンスなものとなってしまふ。充分な検討が必要。

1-2-3-3 判定指針についての考えについて一般的考察(その3)

(尾崎久雄, 池田弥生) 1981

工場排水の監視に動物(コイ)を飼育して観察するという方法は、これまで多くで行なわれてきた化学的方法と違った意味を持っていて、それ自身大変ユニークないき方であり、横浜市のこの方式に多くの方々が大変な関心を持っておられ、文献の中にもそれを指摘されており、私も敬服いたしています。しかし、これは行政上の措置であること、工場という、生物試験には必ずしも熟練していない方々の手で行なわれること、結果に期待する資料の限界、その解釈など、この試験を行っていく上に、いろいろと困難なところがある上に、どこまで廃水を監視するかという目的も、論議の中でしばしば動揺してきて、私にも大変把握しにくいところがありました。

指針は行政上の手続として、目的・方法など明確にしておく必要があるのは良くわかりますが、生物試験そのものがしばしば意外な結果を出して、予め設定していた考え方と必ずしも一致していないこと、その上に飼育管理に由来する不安全もあって「はっきり」と「すっきり」と指針を作成しうるのは大変難しいように思います。

もし、「明確に」「間違いなく」「後からコメントやクレームのつかないように」指針を作成しようとする、得られる結果はきわめて単純なものとなり、折角の生物試験を行なうことの意味がなくなりはないかと思えます。

「何が起こるかわからない」ことがありうること、「工場の方々の飼育管理が充分に完全なものとしても、廃水の監視にはその方々の力量では成し得ないような精密なものでなければならないものがありうること」を考えると、これまで拝聴してきたように、明快、簡単な指針で充分なのかどうか不安になります。即ち、行政上は、簡単、明解、誤りのないようにしなければならぬでしょうが、検査の立場、判定の立場から言えば、そうは言えず、大変面倒な問題を沢山に含んでいるので、両者の間の融合や調整をどうするかということに戸惑いを感じます。

泥まみれになって、試行錯誤にでもあるいは協力して下さる会社や工場からのコメントやクレームがいくら来てもそれを乗り越えて、最終的な方法を見つけるのに努力していこうという行き方しか、今の状態では、あり得ないように思えます。そのようなゴタゴタや間違いのない、スッキリした指針や方法を始めから作成しようとしても、ほとんど不可能なのではないかと思えます。このような試験に関しても、まず常法も定説もない現状ですので、このような経路を通らないと本物には到達できないように思えます。

どういう風に行く決意か、行政的にも、また公害研の協力のあり方についても、この第1歩の考え方により、指針の作成の仕方も、方法や判定もすっかり変わってくると思えます。

表面上体裁だけつくろったようなやり方では、とても市民の信頼の得られるような——ということとは、学問的、技術的にも信頼のおけるような考え方や方法は得られないように思えます。

折角、進んだ考え方で発足された生物試験法なのですから、狭く、短片急な考え方では行き方が心配で、もう少し徹底した考え方と行き方で、育てていく必要があります。

行政上の要望や要求は、しばしば会合上で拝聴しましたが「生物の飼育」「生物試験」となりますと、行政上の要求にばかり従ってはいられません。もう少し、技術者や研究者側の意見も導入してもらわないと、この誠み自体が危険になるように思えます。「指針の作成」というよりも、各工場の協力を得て、指針の基礎となるデータの収集を更に数年つとめるという立場の方が先のように

思えます。問題が多すぎて、特に生物試験の場合は、方法や考え方を狭く規定しても無理で、いろいろな問題が起りうる試験なのですから、どんな事態が起こっても、何とか判定できるような広い考え方でいかないと、どうにもならなくなるように思えます。

飼育方法、条件、水質、……等々生物に与える要因が多くなればなるほど、検査項目も多くなり、細微にわたってこないで、より正しい判定はできなくなります。「飼育条件の変異性」が広いことは明らかだが、検査項目はごく少しというのでは、判定は大変危険になります。この矛盾をどう処理するかが、私のような立場のものには一番心配です。行政的にあまり簡潔にすると、判定は不可能となっていきます。生物とはそのように複雑で、それを判定の手がかりにするには、それなりの多くの検査と判定が必要になってしまうということを理解していきたいと思います。

他方、ある一つの検査で一つの結果が得られたとしても、その結果を探究する原因は沢山あります。ですから、検査項目が少ないほど原因を特定することが難かしくなります。その原因の中で「明らかに排水による」ことがわかれば良いのですが、それすら困難なことが多いのではないのでしょうか。

ヒトの場合でも、同じ症状でも、その原因は沢山あります。ほんとうの原因が何かを特定するにはどうしても沢山の症状の確認が必要になります。現在の問題はその症状が「工場排水によるのか」「それ以外の原因か」を判定すれば良いのですが、それさえなかなか判定は難しいと思います。

生物試験は、特にこのような試験では、大変複雑で難しい。簡単にはいかないということを十分確認した上で、どう「指針」を作成するかを考えるべきだろうと思います。

そして、市及び公害所が、この方法による判定と、この方法の一般化あるいは完成にどれだけ強い意欲があるか、この方法の持つ意義とその利用の価値の認識によって、指針の中に盛り込まれる熱意も大変変わってきます。「どこまでやる気があるのか」という点は、私も会合の席で時々わからなくなることがありました。

御質問いただいた点へのお答えも、実はこのようないろいろな考え方に迷いながらのことで、どう書いたらいいのか、困りました。コイによる生物試験による工場排水の監視方法を、行政上と技術上と学問上、完全に融合させて、完全なものに育てるのには、大変沢山の仕事があり、それを総動員しても、私の知っている現在の学問上の知見では充分ではないことが良くわかっているので、一層悩みは多くなります。苦勞と勞力をいとわずに出来るだけ沢山の検査を続けて、各工場に特有用な検査項目をきめてゆく、という長期間の継続調査をしていかなければならないのではないかと思います。

1-2-4 判定指針についての意見

1) 排水を評価する上での飼育について (鈴木規夫)

(1) 飼育開始の時期について

この2年間、A事業場において8月に飼育を開始し、7月に飼育を終了する形で試験的に飼育を実施していますが、試験の時期についてどのように考えますか。

- 現在8月から飼育試験を開始しているが、コイ、フナ等温水魚類は夏期の高水温期に成長率が高いので試験期間内に高水温期を組入れ、成長の差をより明確にするよう検討する必要があるのではないかと。(例)1年魚を用いて春期に飼育開始 → 1年間 (0年魚に比べて耐性が強いのでは?)

(2) 予備飼育期間について

- 健全な魚であれば1週間程度(飼育環境に順応するまで)で十分であるが、魚病等のチェックを行なうと2~3週間は必要になるのではないかと。

(3) 開始時の選別について

現在、魚は工場に配布する前に公害研究所で蓄養していますが、工場側の飼育開始時における選別の基準をどのように設定したらいいかと。

- 公害研で蓄養中に異常(病魚等)がなければ、外観上の異常魚のみの除外でよいと思う。

(4) 選別時の体型の範囲について

- 個体測定、平均値等の算出、除去範囲の決定、のような手順がとれば理想であるが、現場作業では出来ないのではないかと。肉眼による異常、トビの大小を除けばよいと思う。

(5) 試験開始中の給餌についてですが、成長量で評価をおこなえるようにするためには、対照区と排水区の給餌量は、「量」でそろえるのが適当か、それとも「率」でそろえるのが適当か。又、飼料については、餌残りが確認しやすいようにという理由で浮餌を考えているが問題ないか?

イ) 給餌量について

- 試験期間中に両区の尾数、総魚体重に差が生じるようになるので、総魚体重に対する率(給餌率表)を用いるべきであろう。

しかし、「率」を用いると成長のいい区は、より給餌量が悪い区に比べて多くなってしまふから、より成長に差がでてしまい、同一条件での成長評価は難しくなるのでは。率ができるだけ、両区の摂餌要求に妥当な範囲に入るような形で、「量」をそろえる方がいいのでは。

ロ) 浮餌について

- 成分に問題がなければ浮餌でよい。

(6) 魚病対策について

試験中に病魚が発生した場合、①推移を見守る ②薬浴を行う、③除去を行うといった対応方法が考えられますが、病気の継続、状況等により対応基準を作る必要はないでしょうか。又、病魚が発生した場合、程度により試験を一時的に停止、全面停止をする必要が生じるとは思いますが、その場合の基準をどのようにしたらいいかと。

イ) 魚病対策について

- 特に基準を設ける必要はないと思う。異常(へい死等)が発生し、排水以外の要因と思われる疾病であれば直ちに処置を行うべきである。

ロ) 疾病による試験の停止

一 明確な基準はないが、排水が原因で疾病の場合には、飼育尾数の40%程度のへい死が生じた場合には停止し、新たに再開した方がよいと考える。

ハ) 停止の基準

一 へい死が排水に帰因するものであれば、血液性状等のサンプル等が不足しない時期に全面的に停止してよいと思う。疾病が原因の場合には処置し、そのへい死数等の状況で、中断、新規開始等決定すべきである。

ニ) 再開

一 新たに開始する場合には、全く最初のセットで行うべきである。このため両区の尾数をそろえるため、どちらかの区(できれば対照区)の魚を2分すべきである。疾病による短期間の中断であれば、尾数をそろえず、そのまま継続して行う方がよい。

2) 検査及び排水評価について (四竈安正, 田端健二, 尾崎久雄)

(1) 対照区の対照としての基準の設定は?

一 生存率, 斃死率, 体長, 体重, 発病率, 摂餌状況, 行動, 体色など一般的症状が健康なこと。
一 対照区の残存率(死亡魚, 病魚を除去した)がa%以上の場合を対照として用いるというように形で基準を設定しては, aは研究会で討議の上, かなり大きな値としておく。

(2) 飼育途中で大量死のような事故が起きた場合, 最少限どのような検査が必要か。また排水の評価との関係は?

一 対照区で起ったのなら, 細菌検査, 組織検査, 剖検。排水区で起きた場合は, 廃水による場合もありうるので, 特に詳細な検査が必要となる。給水停止, 酸素欠乏等廃水以外による水質影響もあることから両区が一緒に起ったならば, 餌, 細菌感染, その他廃水以外の経路による汚染などが考えられる。

一 急激に起った大量死にはHard wareの事故が多い。原因ははっきりしていることが多い。

(3) 異常の原因が生物性か無生物性かの判別方法は? 限界は?

一 無生物が原因ならば一度に多くの個体に発病, 発症がおきる。生物なら, 感染なので, 次第に数を増していく。発症, 発病の率は日時的に推移する。

特に細菌性, ウイルス性の発病による症状の診断, その他外部寄生虫の肉眼による検査などの能力が必要。限界は特にない。ただいづれかが先行して起き, 次に別の要因が作用しやすくなることもある。無生物(水質)的な作用があり, 衰弱すると細菌感染しやすくなること, この逆もありうる。コイの病気, *Aeromonas hydrophila* 感染菌, 穴あき病など細菌性疾患の知識が必要である。

一 対照区の方が汚れたはずの排水区より余計に斃死魚を出した場合には, 何らかの病原生物が関係していることを考慮する必要がある。排水中の老廃物が発病予防に貢献していることも皆無とは言えない。

比較的散発的に死ぬ場合, 特に斃死尾数が対照区とあまり変わらないような場合には飼育者の関心を引きにくい。このような場合は, 魚の行動, 形態, 機能, 化学成分などの異常の検索が必要。

(4) 他の項目(血液等)との比較, 総合判定をどのようにしたらいいか

一 血液症状と全身症状には相関がある。全く相関がないことはあり得ない。その場合, 場合で臨

機に検査をして、判定に供しなくてはならない。総合判定には限られた少ない項目だけでは無理で、必要に応じて検査項目をいつでもふやせるような態勢が必要。

(5) 判定方法についてですが、単項目でおこなったらいいか、多項目で総合しておこなうのか
— 死亡率、体重成長、体長成長は投餌などの飼育管理により大きく変動します。そのため、体重成長が悪いといっても「廃水のせいか」「飼育の不備か」は難かしい問題です。そして、飼育がうまくできないと、すべての検査はその価値を失います。それが完全にできるかどうか心配です。特に工場の不馴れな人による飼育ですから、「廃水によるか」「飼育不備によるか」を区別するためには、別のより細かい検査が必要になります。

ヒトでも単一症状で特異的なものは、それだけで診断できます。検査項目の中で一つでも異常があれば異常として良いものもあります。単一判定と総合判定とを組み合わせるのが良いと思います。

— 現状では、成長、生理、組織と並列にし、それらのいずれかに毒物の影響があっても、影響ありと判断しては、実験室レベルのバイオアッセイはそうのようにやっている。

(6) 組織学的検査をおこなわないで魚を評価するには無理がありますか

— 組織学的検査も2) (4)の内容でふれたように証拠としては有用な資料。組織学的検査をおこなわなくても評価は可能であるが、その検査が必要になることもある。証拠物件として、毎年保存する必要がある。

3) 行動について

(1) 判定項目に遊泳行動は適当か

— 遊泳行動から直接、水質の判定を行なうことは出来ないが、給餌時の摂餌状況の変化が魚の生理状態を示すので、水質その他の異常時の一つの裏付けとなる。行動の観察には個人差があり、尺度をかなり大きくする必要がある。

例；給餌とともに全魚が浮上し、活発に摂餌する状態が続いていたのに、或日は全く浮上してこないなど。

— 適当と考える。

(2) 遊泳異常の判断基準は

— 魚も生物であり、判断様式を作る程の詳細な基準作成は出来ないであろう。

— 群から離れている、投餌した時に一緒に行動しない。ヒトが近づいたり、おどろいた時に他と別の行動をとる。水底にじっとしている。給水口や排水口の近くにいる、水面にいる遊泳行動や速度が遅いなど。

4) 生・死検査について (田端健二, 鈴木規夫)

(1) 判定項目に死亡率、生残率のどちらを用いたら良いか

— ① 死亡率、生残率どちらを用いても良い。

② $\text{死亡率} = (\text{死亡尾数} + \text{不明尾数}) / (\text{開始時尾数} - \text{事故尾数})$

不明尾数は通常へい死尾数に入れる。(要検討)

(2) 死亡の判断基準は？

— 死亡の判定は、池底に横転し、棒等でふれても全く反応のない魚、排水の網につまり、自力で動けない魚、程度で良いのではないか。

(3) 取扱いミス、及び不明魚の扱いをどうするか

— 飼育管理上の問題であり、防止に留意させるべきである。あまり多数の場合には再飼育等を考えなくてはならない。

(4) 生残率、死亡率の評価方法は

— 全体的な評価判断は全飼育期間終了時における総尾数率で行なうが、その経過、時期、原因等の解析には中間測定値は是非必要であろう。

— この試験の基本的な考え方は、あまり短期間の急性毒をみるのが主旨ではなく、なるべく長い期間、魚を飼ってもらい、長い間に徐々に死んで来たり、異常が出てくるような慢性毒を見出すことが目的である。この主旨からして、池中に病魚を発見したときは、できるだけ取り除く方針でのぞみ、これがために、死亡率が正しく求められなくとも（同様に生残率を）、仕方がないのではないか。除去魚、死亡魚、不明魚を除いた残存率で示したらどうか

5) 成長について（鈴木規夫）

(1) 成長は他の検査との関連でどのように位置づけたいですか

— 生理、組織試験と並列で良いと考える

(2) 成長試験において対照区と排水区の水温差についてどう対処したいですか

— 水温差については、両区の間には差がないことが望ましいが、この試験の場合にそこまで工場に規制することは出来ないと思われる。結果の判定時に、水温差をどう考慮するか検討が必要である。

(3) 換水率については1日10交換と考えていますが、排水量の少ない工場において換水率を下げる場合、対照区も同様に下げた方がいいですか

— 両区とも同一に調節すべきであろう。

(4) 給餌条件をどのようそろえるのが、成長で評価を行う上で有効か

— 量で同一にするか、率で同一にするかにより、結果は全く異なってしまう。率で統一し、飼料効率を同一にした方がよい。

6) 血液検査について（尾崎久雄、池田弥生）

(1) 生理状態の評価は、Hb、Ht、RBCあるいは1項目で可能か。どの程度評価できるか。

— 3項目すべてを検査するのが最も望ましい。各項目それぞれ違った意味をもっています。3項目が同じ意味をもっているならば、ヒトにおいて3項目も検査されないと思います。

どうしても1項目にしぼりたいというのならHbをとりたいと思います。HbはFe欠乏、Hb

— 蛋白合成の二つにかかわり、Hb-蛋白合成とのかかわりで血球生成(RBC)にも関係してきます。Htは本来、測定誤差が大きいですが、RBCに比例するとみてよいでしょう。

(2) MCHC、MCV、MCHによる貧血の分類による評価の有効性、あるいは工場排水、環境との関係は把握できるか

— MCHC、MCV、MCHは、それぞれ意味があり、検査結果に何か症状が出た時に、あとから知りたいと思うことがあります。MCHが一番多く使われるようですが、これを知るには、RBCとHbを測らなければならず、質問(1)との関係がでてきます。廃水中の物質の中に貧血を起すものがあれば、その理由を知る上では3項目とも必要です。廃水が常に一定なら、一度詳細な検査をしておけば良いのですが、毎日変動するので、結局は一年間の平均を見るということになり

ます。

(3) 血液検査と他の項目(成長, 組織)との関連性, あるいは位置づけをどうするか。

一 貧血はFe欠乏, 蛋白欠乏, 造血器官障害, 溶血などによります。特に蛋白欠乏の時は, 成長量と比例します。蛋白欠乏をもたらす中毒による摂餌不足とか, 肝障害によることがあり, 「食べない」ためと「食べても栄養にならない」場合とがあり, 成長量と関係がでてきます。組織検査との関係は難かしいかも知れませんが, 肝重量, 肝脂肪量, 肝の色……………などと相関があると思えます。

(4) 血液検査による異常の判断基準の決め方について伺いたい。対照区と排水区間における平均値の差の検定でおこなうのが良いのか, それとも対照区の正常範囲との関連で見るとか。

一 平均値の差の検定で「統計学的に有意」なら, 一番ははっきりしています。しかし, 魚の場合は「統計学的に有意」でなくても, 検査値の変動が大きく病的と見なければならぬこともあります。対照区のM±σの外側に排水区間の平均値があり, 全体の分布が対照とずれていれば, 対照と比べて「増加または減少の傾向がある」と見るべきでしょう。このような検定法は今のところありませんが, どうもそう見るのが良いと思えます。

(5) 対照区の基準化は必要か, D工場の例のように対照区の値が低い場合どうするか。

一 飼育がしっかりしていないと対照区が乱れてD工場のようなことになります。飼育不備となり対照区は使えそうにありません。排水区は他の測定値との比較で判定しなければならぬになります。この時も検査項目が多ければそれ自体から判定できますが, 項目が少ないと大変難かしくなります。

(6) 検査項目に関する質問からくる感想

イ) 生物を用いる試験は複雑で難かしいこと。コイそのものを十分に理解する必要があるし, 水温, 酸素分圧, 炭酸分圧, pH, ……その他, 廃水に含まれる成分以外の要因によって影響を受けるので, それらの要因の影響も充分理解していないと症状の判定が難かしい。

ロ) 検査項目の検定, 考え方がコイを無生物的に取扱えるような方向に向けられているように思える。コイの解剖, 組織, 生理, 病理などの知識を縦横に駆使しないと一つの症状の判定も難かしい。

ハ) 各工場の廃水特有な症状が見つければ, それを手がかりとして判定できるが, そこまで研究が進んでいないので, なかなか難かしい問題がたくさんある。

ニ) 血液性状も変動し易いので, まず何といてもしっかりと飼育できるかどうかになります。特異的な症状を見つけるのでなければ, 廃水の影響よりも, 飼育の影響の方が大きく出てきそうです。指針にこの点をどれだけ特記できるかも大切なことです。

7) その他の項目について (尾崎久雄, 池田弥生)

(1) 窒息死の所要時間の測定から判定する体力テストは検査項目として適当と考えられますか

一 不適当

これは全身の体力をみるのには良い方法ですが, 装置が必要です。環状の水槽で水流を起こして, 流れにのぼれる流速, 或はある流速への抵抗時間などをみわければ良いと思えますが, 費用はかかります。現場ではできないので公研へ魚を運ばなくてはなりません。水槽内で追いまわし, くたびれて泳げなくなるまでの時間を測るのも簡単ですが, 誤差が大きい方法です。被労度なら,

運動させて対照区と処理区とをタップをつけて同じ水槽に入れ、一緒に追いまわしても良い。血中乳酸量を測ったり、一定時間休息させた後の乳酸量を測る方法もありますが手間がかかります。

(2) ウロコの成長からの判定はできないでしょうか

ウロコは長期の観察に良い材料かも知れません。しかし、コイでは摂餌せずにいて体表が成長しない時は、ウロコの線の間隔は狭くならないで、ウロコの成長が止まるか、吸収が起ります。吸収の時はその後の成長があると、そこに不連続線を作り、その時は「何かがあったことを示してくれます。しかし、吸収が起らないで線の間隔が狭くなることは少ないので判定しにくいようです。

1-3 排水評価指針素案フロー

1981年10月に、検査方式について「魚類指標による排水評価のための技術要領」として策定すると共に、排水評価についての素案を作成した。素案フローを図1-3-1に示した。

この素案が基本的に今回の暫定排水評価指針の土台となっている。フローに沿って説明すると、1年間飼育終了時に検査をおこない、この検査結果について対照区と排水区で統計学的な比較を行い、差のあった項目数により異常の程度（グレード）として示される。次に排水区指標魚の異常が排水に帰因するかどうか、飼育水質面、管理面から問題点を消去する形で、間接的に排水との因果性へと結びつけていく方式となっている。しかし、この段階では評価の基準化の中味の問題、飼育水質及び飼育管理の具体的検討事項をどうするかなどが課題として残っていた。

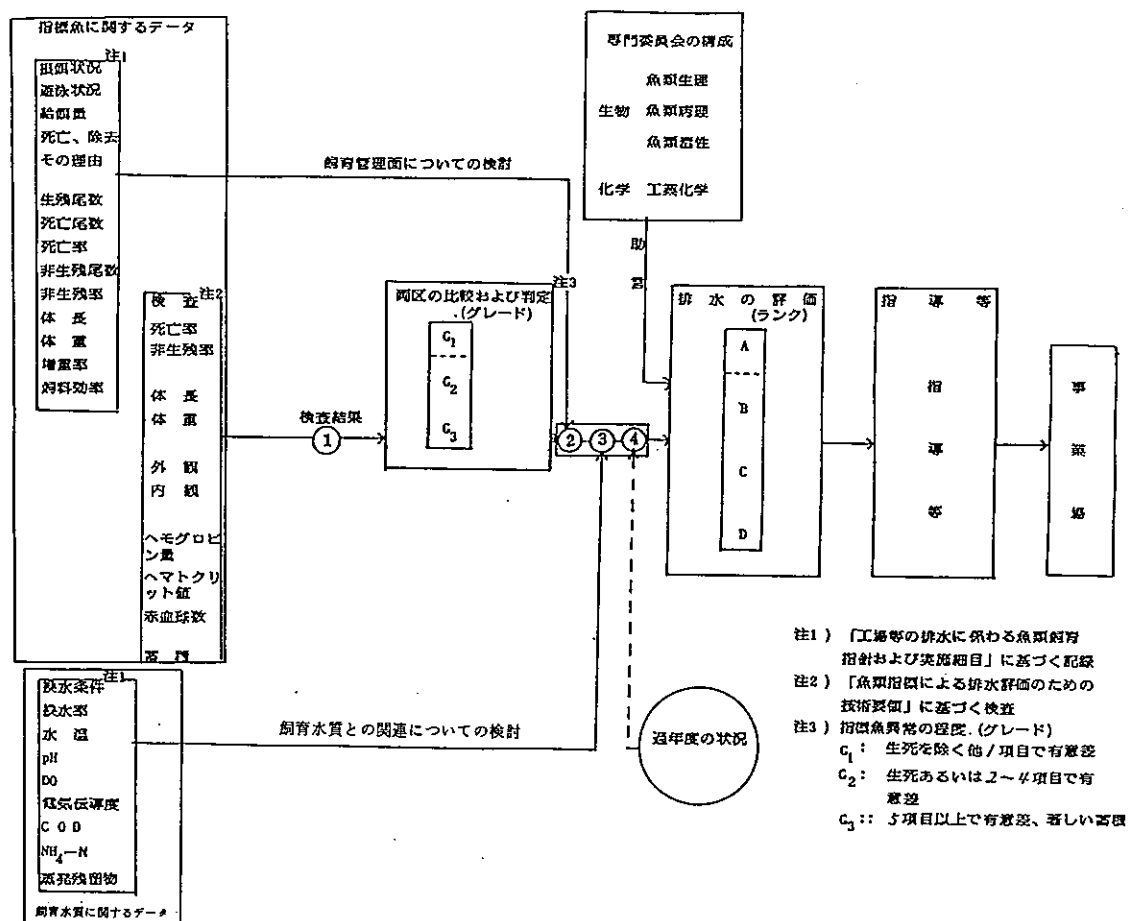


図1-3-1 指標魚に基づく排水評価のフロー（素案）1981.10

2 魚類指標による工場排水規制手法導入に向けての研究内容

2-1 生・死検査による工場排水評価手法に関する研究

2-1-1 工場排水の急性毒性による排水評価 (齊藤治子)

1) はじめに

生死と工場排水中の毒性物質との関連性を知るために、工程と使用原材料など、比較的系統が単純化されて把握しやすい、中小の事業所において、図2-1-1に示すような、移動式の小型魚毒試験装置を用いて現場実験を行った。対象事業所は捺染、洗濯、めっきの三業種で、凝集処理法を採用している所である。

2) 方法

孵化後、約7ヶ月間蓄養し、2週間馴化した鯉を用い、工場内において、流水式75時間急性毒性を行った。試験水は、工場内の総合排水についての実排水処理施設による処理前後水および、各工程別排水について実排水処理施設と同方法で、手作業による処理の前後水を用いた。又、一部模擬排水および、原材料として使用されている薬剤液も試験水として用いた。

3) 事業場の概要

イ) 捺染業

捺染業における作業工程および排水の系統を図2-1-2に示した。捺染業における主たる汚濁物質は、各捺染工程で使用される染料、糊および助剤、それに水洗工程で使用される洗剤およびアルカリである。染料は捺染する素材(布地)によって異なるが、アゾ系とキノロン系のものはほとんすべての素材に共通して使用されている。糊剤には澱粉を主流とする天然糊剤、C.M.C.(カルボキシメチルセルローズ)、グアガムを中心とする半合成糊剤、それにP.V.A.(ポリビニルアルコール)を中心とする合成糊剤が、素材との関係で混合比を組み変えながら使用されている。助剤には染料溶解分散剤、帯電防止剤や浸透均染剤等として、主として界面活性剤が用いられるが、使用量は前者の2種に比較して僅かである。洗剤には主として陰イオン、非イオンおよび両性の界面活性剤の混合物が用いられ、アルカリ剤としては、専ら水酸化ナトリウムが用いられている。

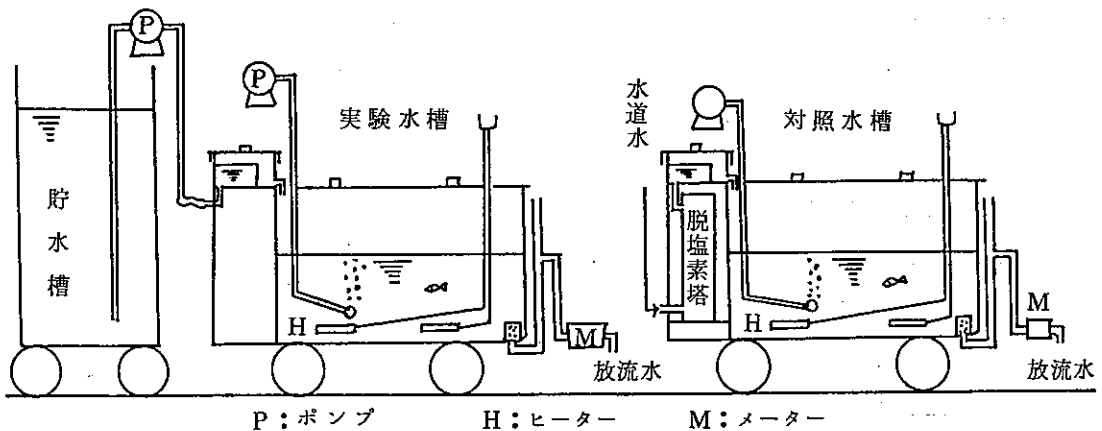


図2-1-1 移動式魚類試験装置

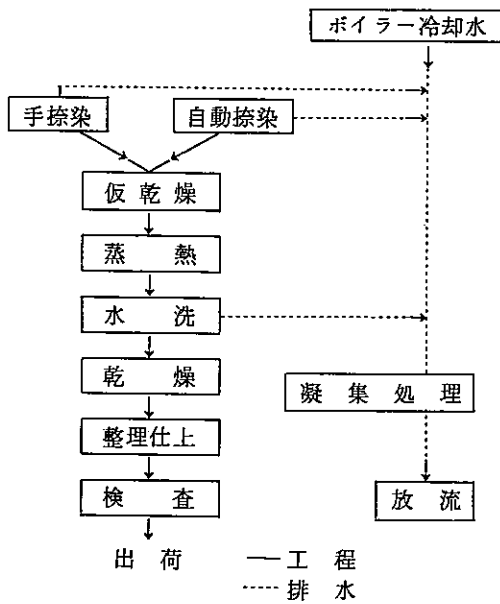


図 2-1-2 作業工程および排水系統図

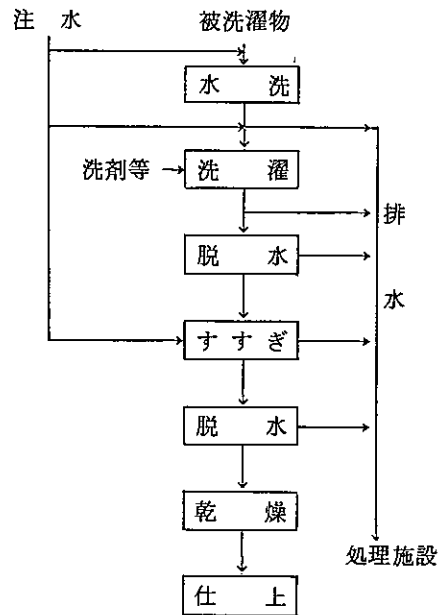


図 2-1-3 洗濯工程図

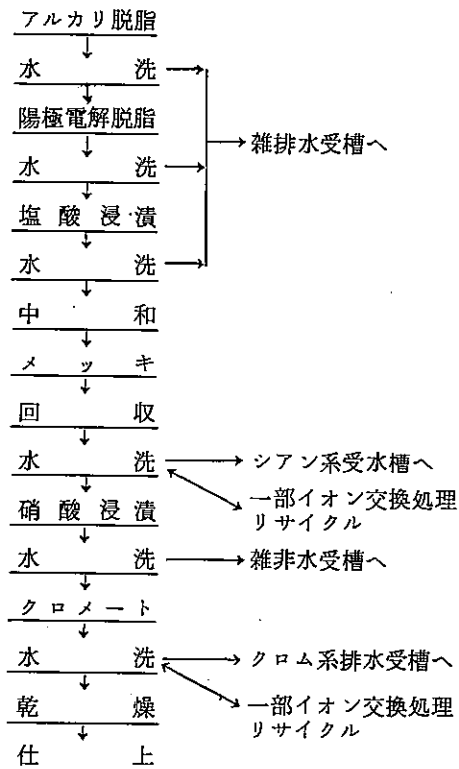


図 2-1-4 メッキ作業工程図

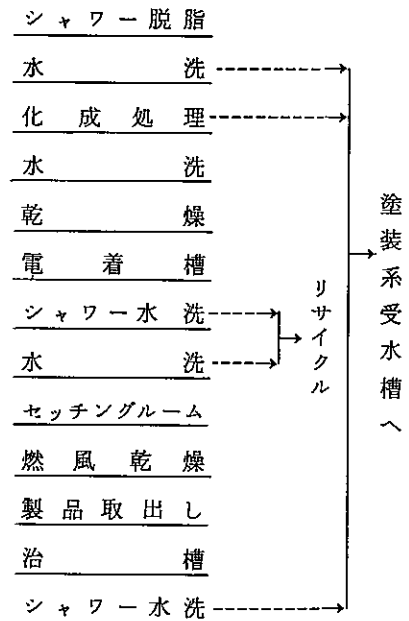


図 2-1-5 電着塗装工程図

これらの汚濁物質の中で凝集処理に悪影響を与えたり、処理されにくいものとして、澱粉、非イオン界面活性剤が知られている。

ロ) 洗濯業

洗濯業の工程図および排水の系統を図2-1-3に示した。洗濯排水の汚濁物質は原材料である洗剤、助剤、漂白剤と糊剤の4種類および素材である布地の細かい浮遊物と汗などの汚れである。洗剤は非イオン系界面活性剤が主体であり、助剤はメタケイ酸ナトリウム、漂白剤は次亜塩素酸ナトリウムおよび過酸化水素、糊剤としては澱粉がそれぞれ用いられている。

ハ) めっき業

めっき業における工程図は、図2-1-4にメッキ作業の工程および排水系統図を、図2-1-5に電着塗装作業の工程および排水系統図を示した。メッキ系排水の汚濁物質は脱脂剤、酸洗浄剤、めっき剤、クロメート剤の4種類である。脱脂剤は主として水酸化ナトリウムであり、これに非イオンおよび陰イオン界面活性剤などが含まれている。酸洗浄剤は塩酸や硝酸を主体とした、高濃度の酸である。めっき液としては亜鉛、シアン化ナトリウム、水酸化ナトリウムが多量に含まれ、クロメート剤の主成分は無水クロム酸と硝酸である。電着塗装系排水の汚濁物質はめっき作業と共通の脱脂剤の他に、リン酸を主成分とし、それに塩酸等を加えた処理剤および高濃度の水酸化ナトリウム液の剝離剤である。

4) 結果および考察

各実験における試験条件は、流水量(1交換/日)、pH(5.8~8.6)、溶存酸素量(5mg/ℓ以上)水温(20℃)が一定となるように調整した。なお、鯉の死亡と異常は全ての対照群で認められなかった。

イ) 捺染業

捺染業における現場実験の水質測定結果は表2-1-1に、室内実験における水質測定結果は表2-1-2に示した。又、鯉の死亡率および異常出現率は表2-1-3に示した。

総合排水の処理前で鯉が死亡したのは自動捺染排水に起因すると考えられ、使用原材料の使

表2-1-1 捺染業の現場実験における水質測定結果

項 目	総合排水		手捺染排水		自動捺染排水		水洗排水		対照
	処理前	処理後	処理前	処理後	処理前	処理後	処理前	処理後	
化学的酸素要求量 mg/ℓ	290	64	130	5.3	90	21	240	36	1
アンモニア性窒素 mg/ℓ	1.15	1.17	0.25	0.20	1.60	1.42	0.08	0.47	0.18
有機体窒素 mg/ℓ	15.70	7.58	6.68	4.67	3.07	2.24	2.58	1.54	0.28
非イオン界面活性剤 mg/ℓ	12.6	13.8	1.0	0.7	0.2	0.2	28.0	1.0	不検出
電気伝導度 μS/cm	790	890	346	678	67	826	149	1100	—

数値；平均値

用量から、模擬自動捺染排水およびその成分を染料と糊・助剤に分け、排水と同濃度に希釈して実験を行った結果、内部形態

表 2-1-2 捺染業の室内実験における水質測定結果

項 目	模擬自動捺染排水	染料液	糊・助剤液	対照槽
化学的酸素要求量 mg/l	100	32	100	1
アンモニア性窒素 mg/l	0.01	0.02	0.05	0.00
有機体窒素 mg/l	2.46	2.05	0.71	0.50

数値；平均値

ならびに鰓形態の異常の現われ方から、その死亡原因は染料であることがわかった。手捺染と自動捺染を比較すると、化学的酸素要求量および有機体窒素量共に手捺染の方が高く、染料の使用量はむしろ手捺染の方が多いうように推察されたが、手捺染における染料は分散染料が主体であり、アゾ系とキノロン系がほぼ等分に含まれている。自動捺染においては、アゾ系の酸性染料が最も多く、次いで、アゾ系とキノロン系の分散染料が含まれている。表 5 の手捺染と自動捺染の比較から、処理前水における鯉の死亡の主因は、アゾ系酸性染料であると判定された。

水洗排水による横臥遊泳などの強度の鯉に対する障害は、鰓の異常の症状から、富山、¹⁾ Lemke, A. E. 他²⁾の研究結果とも一致していることから、界面活性剤によると推定された。

ロ) 洗濯業

洗濯業における水質測定結果を表 2-1-4 に、鯉の死亡率および異常出現率を表 2-1-5 に示した。表 2-1-4、2-1-5 の結果から、排水処理によって急性毒性は、死亡率では 100%、形態異常出現率についてもかなりの改善がみられた。又、処理前の死亡の原因も表 2-1-4 および表 2-1-5 の室内実験の結果から非イオン界面活性剤によるものと判明した。処理後の遊泳異常については、横臥遊泳がその主たる異常であり、捺染業における水洗排水の結果とも一致していること、および試験水 3、4 の非イオン界面活性剤濃度 $5.0 mg/l$ に対して、処理後でも $2.56 mg/l$ あることから、その主因物質は非イオン界面汚性剤であると推定された。

ハ) めっき業

めっき業における水質測定結果を表 2-1-6 に、鯉の死亡率および異常出現率を表 2-1-7 に示した。めっき業では概要で述べたように、シアン化カリウム、クロム酸などの毒物が用いられていることから、めっき系排水のシアン系およびクロム系の原水で 100% 死亡したことは、原水中の総シアン化合物、六価クロムの濃度からも当然のことと言える。しかし、雑排水、処理水で死亡し、あるいは水面を力なく遊泳するなどの強い障害は原材料の精密な検討が必要となる。電着塗装系においては、原水で全ての魚が死亡したが、その原因については、形態異常の現われ方が今迄と異なること、メッキ系の雑排水の水質と比較して、化学的酸素要求量が 2 倍もあることから、合成界面活性剤よりはむしろ、脱脂工程で用いられる有機溶剤の影響も考えられ、原材料の検討が今後の課題となった。しかし、処理後はほとんど異常が見られなかった。

表 2-1-3 擦染業における鯉の死亡率および異常出現率

症 状	総合排水		手擦染排水		自動擦染排水		水洗排水		室内実験		
	処理前	処理後	処理前	処理後	処理前	処理後	処理前	処理後	模擬自動擦染水	染料液	糊・助剤液
死 亡	10	0	0	0	10	0	0	0	10	10	0
外部形態	1	0	9	0	5	0	10	0	6	10	0
鰭の出血	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体表面の粘液異常分泌	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0
胸部出血	0	0	0	0	3	0	0	0	5	9	0
胸鰭および付根の皮内出血	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1	0
肛門部出血	0	0	0	0	2	0	0	0	2	1	0
横臥遊泳	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
呼吸の乱れ	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0
内部形態	10	10	10	5	10	0	7	2	10	9	0
肝臓の微暗褐色化	5	10	10	5	0	0	7	2	0	0	0
消化管の黒色化	0	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0
腹腔内出血	9	0	0	0	10	0	0	0	10	9	0
鰓 形 態	10	5	10	6	10	5	9	8	10	10	0
鰓弁, 二次鰓弁の浮腫	8	5	10	6	0	0	4	0	0	0	0
二次鰓弁のよじれ	4	0	0	0	9	5	6	3	0	0	0
鰓弁, 二次鰓弁の先端部壊死崩壊	3	0	0	0	9	0	0	0	6	10	0
二次鰓弁の委縮	0	0	0	0	10	0	6	0	7	9	0
鰓弁, 二次鰓弁の出血	0	0	0	0	3	0	0	0	10	0	0
鰓弁上皮の収縮	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0

数値；10尾当りの出現頻度

表 2-1-4 洗濯業における水質測定結果

項 目	現場実験			室内実験						
	処理前	処理後	対照	模擬排水	試験水1	試験水2	試験水3	試験水4	試験水5	対照
化学的酸素要求量 mg/l	99	19	2	46	27	23	9	13	6	2
懸濁物質 mg/l	41	5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
非イオン界面活性剤 mg/l	29.3	2.56	0.09	12.3	13.7	13.4	5.0	5.0	不検出	不検出
電気伝導度 $\mu S/cm$	727	1325	220	650	425	332	295	295	210	206

試験水1：非イオン系配合合成洗剤AおよびB，粉末石けん，メタ硅酸ナトリウム，澱粉を模擬排水と同濃度で混合

試験水2：試験水1の中の洗剤系3種を模擬排水と同濃度で混合

試験水3：非イオン系配合合成洗剤Aのみを模擬排水と同濃度で溶解

試験水4：非イオン系配合合成洗剤Bのみを模擬排水と同濃度で溶解

試験水5：粉末石けんのみを模擬排水と同濃度で溶解

数値：平均値

表 2-1-5 洗濯業における鯉の死亡率および異常出現率

症 状	現場実験			室内実験					
	処理前	処理後	模擬排水	試験水1	試験水2	試験水3	試験水4	試験水5	
死 亡	10	0	10	10	10	10	10	0	
外部形態	10	9	0	0	0	0	0	0	
体表の粘液分泌が顕著	10	0	0	0	0	0	0	0	
遊泳異常	0	9	0	0	0	0	0	0	
内部形態	10	6	10	9	8	1	3	0	
腹腔内出血	10	2	10	6	8	1	3	0	
鰓 形 態	10	5	9	4	5	9	10	8	
二次鰓弁のよじれ	10	0	0	0	0	0	0	7	
二次鰓弁の委縮	2	5	8	4	5	9	10	1	

数値：10尾当りの出現頻度

5) まとめ

凝集処理法を採用している，捺染，洗濯およびめっき業の排水について，現場実験および室内実験を，理化学的結果に加えて，鯉の生死と形態異常という，生物学的評価によって検討を行った結果，処理効果の評価および工程系を評価し，最終的には死亡の原因を解明することが可能であることがわかった。

環境水の安全性確保のために，排出水の生物学的評価は欠くことの出来ないものであると考える。

文 献

- 1) 富山新一：界面活性剤の魚に対する作用について，日本水試，40，1291-1296，(1974)。
- 2) Lemke, A. E. and Mount, D. I.: Some effects of alkyl benzene sulfonate on the bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 92, 372-378, (1963)。

表 2-1-6 めっき業における水質測定結果

項 目	め っ き 系				電着塗装系		総合処理水	対 照
	シアン系原水	クロム系原水	雑排原水	処理水	原 水	処理水		
化学的酸素要求量 <i>mg/l</i>	62	10	23	1.2	42	10	8	2
総シアン化合物 <i>mg/l</i>	35.5	不検出	0.07	0.03	>	>	0.12	不検出
六価クロム <i>mg/l</i>	不検出	140	不検出	不検出	>	>	>	不検出
総クロム <i>mg/l</i>	不検出	150	不検出	不検出	>	>	0.25	不検出
ニッケル <i>mg/l</i>	>	>	>	>	0.16	0.11	>	>
亜鉛 <i>mg/l</i>	4.95	15.1	2.78	4.04	0.39	0.40	0.44	0.32
鉄 <i>mg/l</i>	>	>	0.3	>	-	-	>	>
陰イオン界面活性剤 <i>mg/l</i>	>	>	2.56	0.79	1.09	0.06	0.21	>
非イオン界面活性剤 <i>mg/l</i>	>	0.12	1.46	0.58	2.03	0.36	0.25	>
電気伝導率 <i>μs/cm</i>	2,040	1,900	2,120	6,020	546	728	5,130	206
残留塩素 <i>mg/l</i>	不検出	不検出	0.2	不検出	0.3	0.5	-	不検出

数値：平均値 >：定量限界以下 -：測定なし

表 2-1-7 めっき業における鯉の死亡率および異常の出現率

症 状	め っ き 系				電着塗装系		総合処理水
	シアン系原水	クロム系原水	雑排原水	処理水	原 水	処理水	
死 亡	10	10	3	10	10	0	0
外部形態	10	10	7	1	10	0	2
体表面の粘液分泌顕著		3	10	0	0	9	0
眼球突出		0	0	0	0	3	0
胸 付根充血		10	0	1	1	10	0
胸 充血		10	0	0	0	0	0
水面を力なく遊泳		0	0	7	0	0	0
内部形態	10	3	4	10	10	0	10
腹腔内出血		7	2	0	5	8	0
肝脾臓充血		10	1	4	5	0	0
肝脾臓淡色化		0	0	0	0	0	10
鰓 形 態	10	10	10	10	1	3	5
鰓の部分的壊死		0	4	0	0	0	0
鰓弁, 二次鰓弁の著しい浮腫		0	10	4	0	0	0
鰓弁先端部の著しい浮腫と 二次鰓弁の委縮		0	0	0	9	0	0
二次鰓弁の浮腫		4	0	4	0	1	3
二次鰓弁の委縮		0	0	2	1	0	0
二次鰓弁の乱れ		6	0	0	0	0	0

数値：10尾当りの出現頻度

2-1-2 生・死による排水評価手法の検討（水尾寛己）

生・死の項目により排水評価を行う場合、先の工場排水の急性毒性試験のように短期間の急性毒生の発現から排水評価を行うことは、飼育技術上の問題が比較的少ないことから容易である。それに対し、長期間の排水の影響を見るような試験の場合は、急性的に起こるのではなく、1尾、2尾と少しずつ死亡魚が出てくるようなケースが考えられるわけであり、時によっては、それを原因として細菌性の感染症などにかかり、急性的に死亡魚が出てしまったりして評価が難かしくなってしまうことが予想される。本市で策定した試験法では、死亡魚等の異常が出た場合、初期段階で抑えるよう、薬浴による治療や重症魚の除去などの措置をおこない、その後継続飼育する形で、細菌性感染などの二次的の疾病の影響を極力少なくする方式で試験を行っている。

生・死による評価項目としては、通常、死亡率が良く用いられている。

死亡率は、試験期間中に何らかの測定のため、取り上げて処置する魚があるので、鈴木（1978）は、それらの魚も考慮して推定死亡率で示している。推定死亡率は、各期間ごとの生残率と前の期間の累積生残率との積をもとに求めた累積死亡率で、全死亡数／供試尾数、あるいは全死亡数／（供試尾数－測定尾数（又は除去不明尾数））よりも正確と考えられるが、推定死亡率（累積死亡率）で何%以上を、異常とするかの一定の基準を決めなければならないが、何%以上にするか画一的な基準化は難しい。

それに対し、死亡率について対照区と比較し、出現率の差の検定で評価を行う方が一貫性のある評価方式で、対照の死亡率が増せば、それだけ排水の死亡率が大きくならなければ差としては評価

表2-1-8 死亡率の推移例

項目 \ 期間	1 期	2 期	3 期	4 期	5 期
開始時試験数	100				
生 残 尾 数	95	90	81	75	72
各期間の死亡尾数／試験尾数	2/100	3/95	4/90	2/78	3/72
除 去 尾 数	3	2	5	4	0
不 明 尾 数	0	0	3	0	0
各期間の生残率	98.0	96.8	95.5	97.5	96.0
累 積 生 残 率	98.0	94.9	90.6	88.3	84.8
推定死亡率（累積死亡率）	2.0	5.1	9.4	11.7	15.2
死 亡 率	2.0	5.0	9.0	11.0	14.0
非 生 残 率	5.0	10	12	18	21

各期間の生残率＝各期間の生残尾数×100／前の期間の生残尾数（試験尾数）

累積生残率＝各期間の生残率×前の期間の累積生残率

推定死亡率（累積死亡率）＝100－累積生残率

死亡率＝死亡尾数×100／開始時試験尾数

非生残率＝（死亡尾数＋除去尾数＋不明尾数）×100／開始時試験尾数

されないという形で、客観的に評価がおこなえるという利点があり、説得力ももてると判断する。

ただし、死亡率で評価する場合、病魚や不明魚については、無視しており、実際には病魚や不明魚が排水に帰因する場合も考えられることから、死亡率の他に非生残率（死亡尾数+除去尾数+不明尾数の出現率）によって評価を行うことも意義があると考ええる。

表2-1-8に、死亡率の推移例を示した。例えば、試験期間を5期とし、供試尾数を100尾とし、各測定時における死亡尾数を（2,3,4,2,3）、除去尾数が（3,2,5,4,0）、不明尾数が（0,0,3,0,0）とすると、5期目の累積死亡率は15.2%であり、通常の死亡率は14%、非生残率は21%という関係になる。

次に、死亡率、非生残率について、統計学的に出現率の差でもって比較した場合、実際にどの程度の開きとなるか5%有意水準で計算値を表2-1-9に示した。即ち対照区で10尾死亡の場合排水区で20尾以上の死亡が見られなければ、統計学的には有意差があるとは言えないことになる。

表2-1-9

5%有意水準差における対照区と排水区の死亡尾数（又は非生残尾数）の比較

対 照 区 (尾)	死 亡 尾 数 (又は非生残尾数)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
排 水 区 (尾)	4	7	8	10	12	13	15	16	18	19	20
両 区 の 差 (尾)	4	6	7	7	8	8	9	9	10	10	10

ただし、飼育尾数を100尾と仮定する。

2-2 魚類の血液検査による健康状態評価手法の基礎的研究 (樋口文夫)

魚類の血液成分は種々の要因で変動する。特に成長、年齢、性等の生物の特質、水温、水質等の環境要因、取り扱い、薬物等の人為的要因などに影響される。本研究もこれらの変動要因の解析が中心であった。その検討内容をあげれば、生物の特質要因が成長、年齢、生殖等との関係、環境要因が塩分、水温、アンモニア、人為的要因が麻酔剤の作用などであった。以下に研究内容の概要を手順を踏んで報告していく。

1) 血液成分の変動要因及び正常値

(1) コイの室内飼育における血液性状(Hb, Ht, RBC, TP等の検討) 1)

コイを恒温室内(22℃)に設置した流水式水槽(換水率 5回/日)で1ヶ月間飼育した。水温は19±1℃であった。供試魚及び尾数は神奈川県産のコイ(当才魚), 70尾であった。体重は21.9±10.5(g), 体長は92±14(mm), 肥満度は26.4±22.3であった。血液検査項目はヘモグロビン量:Hb, ヘマトクリット値:Ht, 赤血球数:RBC, 平均赤血球ヘモグロビン濃度:MCHC, 平均赤血球容積:MCV, 赤血球ヘモグロビン量:MCH, 血漿総蛋白量:TPであった。

血液性状値の分布型はHb, Ht, RBC, MCHが正規型, MCHC, MCVが対数正規型に近い分布を示した。体重, 体長等との関係ではRBCと正相関, Hb, Htとは相関を示さなかった。なおTPは肥満度と正相関を示した。血液性状値間ではHbとHt, RBCと正相関を示し, これらの回帰直線はいずれも有意な直線性を認めた。変動係数%はRBC, MCV, MCH, TPが16~18%の比較的高値を示した。以上のことから同一母集団, 飼育条件等が一定であるならば, 魚体の大小を考慮しなくてもよいことが明かになり, 以下の正常値を設定した。Hbが8.67±1.05(g/100ml), Htが33.6±3.2(%), RBCが150.5±19.3(10⁴/mm³), MCHCが25.8±3.3(%), MCVが22.94±5.15(μm³), MCHが5.86±1.19(nmg), TPが3.70±0.61(g/100ml)であった。またこれら正常値をもとに集団の健康状態を評価するとき, 基準化された取り扱い, 測定方法で血液検査を実施し, 生息環境ごとに正常範囲を設定していく必要があると思われた。

(2) コイの室内飼育における血液性状(TP, 血漿蛋白分画) 2)

先と同様な飼育条件のもとで, セルローズアセテート膜電気泳動法の測定条件の検討, それを基に正常な血漿蛋白分画パターンの解析を行なった。供試魚は神奈川県産のコイ(1才魚)を用い, 尾数は91尾であった。その体重は88.1±30.9(g), 体長が145±37(mm), 肥満度が24.2±2.2であった。

測定条件の検討の結果, ペロナール緩衝液のイオン強度が0.06, 通電量が0.6~0.7mA/cmが最適な条件となった。以上のことから健康なコイの血漿蛋白分画パターンを検討した結果, 基

表2-2-1 コイの血漿蛋白分画値(%)

パターン \ 分画	I	II	III	IV	V	VI
A	56.69±7.80	4.76±2.07	6.40±4.76	12.28±3.53	10.82±3.35	9.00±3.42
B	57.68±5.62	5.91±2.81	5.27±2.75	21.01±3.31		9.79±4.66

本的に2型、ここではA、B型があることが明らかになった(図2-2-1)。A型は陽極側よりI、II、III、IV、V、VIの6分画、B型はI、II、III、IV、Vの5分画でA型に比較してV分画が帯として出現しないものとなった。各分画の値(%)を表2-2-1に示した。値はI分画が最も高く、ついでIV、V、VIの順であった。各分画値の変動係数はI分画が最も低く、ついでIV、Vの順であった。これら分画値の成分は主にI分画はアルブミン領域、他の分画はグロブリン領域の成分と示唆される。またA、B型の出現理由としては性差より他の血漿成分の差に帰因したものと推測された。血漿と血清との差はVI分画に出現した。以上の結果から血漿蛋白分画像をもとにして生理状態を評価する場合、A型、B型のパターン別にその変動を考慮して診断していく必要があると思われた。

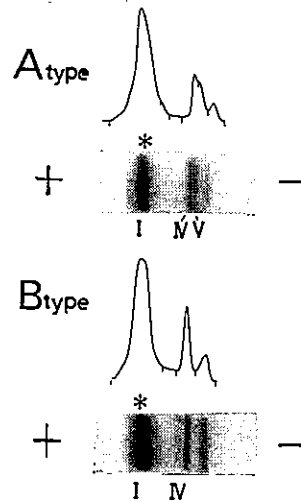


図2-2-1 血漿蛋白分画の正常像
A型、B型の比較、IV、V分画に注目 *：資料塗布点

(3) コイの野外飼育における血液成分の変動(季節、年齢、性)³⁾

魚類の血液成分は特に野外飼育では環境要因と生物的特性によって変化する。そのため本研究はこれら変動要因、主に季節、性、年齢を中心に検討を加えた。供試魚は神奈川県産の健康なコイを用い、野外に設置した循環流水式水槽(容量1.5 m³)に収容し、2年8ヶ月にわたって実験した。血液検査項目は1)の検討項目の他に血漿総蛋白量：屈折計法はTP₁、ビューレット法はTP₂、アルブミン：BCG(+), グロブリン：BCG(-), BCG(+)/BCG(-)：A/G, 血漿グルコース：Glucose, 総コレステロール：TC, 尿素窒素：PUN, アルカリフォスターゼ：ALP, グルタミン酸オキザル酢酸トランスアミナーゼ：GOT, グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ：GPT, 乳酸脱水素酵素：LDH, 無機リン：InP, クロライド量：Cl, ナトリウム量：Na, カリウム量：K, カルシウム量：Ca, マグネシウム量：Mgであった。体重の変化は開始時、平均値

表2-2-2 季節別の水温変化(℃)

季節(月)	測定回数	平均水温	最低水温	最高水温
春(3~5)	118	17.9	8.5	26.8
夏(6~8)	143	24.7	18.6	32.0
秋(9~11)	113	18.3	9.0	28.6
冬(12~2)	131	8.1	4.8	13.7

17.4 gで終了時は737.1 gと増加した。季節別の水温変化は表2-2-2に示した。

血液成分の季節変化は項目によって一定の傾向があることがわかった。すなわちHb, Ht, RBC, GPT, 無機Pは春、秋に高く、夏、冬で低下、蛋白、脂質成分のTP, TCは秋、冬に高く、夏に低値、また春に高値は酵素活性のGOT, LDH等であった(表2-2-3)。性別による

表 2-2-3 季節別の全血及び血漿成分の平均値，標準偏差

季節	Hb g/100ml	Ht %	RBC 10 ⁴ /mm ³	MCHC %	MCV μm ³	MCH Pmg	TP ₁ g/100ml	TP ₂ g/100ml	BCG(+) g/100ml	BCG(-) g/100ml	A/G	Glucose mg/100ml
春	22 ^{*1} 8.78±1.20 ^{*2}	23 37.9±5.1	22 154.8±18.6	22 23.2±2.7	22 249±41	22 56.8±8.2	23 3.61±0.48	24 2.50±0.28	24 1.34±0.23	24 1.17±0.19	24 1.18±0.29	23 72.8±20.9
夏	42 7.74±0.74	42 33.8±5.0	42 141.9±22.0	42 23.3±3.1	42 245±57	42 55.7±8.6	41 3.03±0.30	41 2.03±0.25	22 1.06±0.12	22 0.98±0.27	22 1.18±0.36	22 85.8±19.0
秋	41 8.80±0.76	41 35.4±5.1	41 143.0±24.0	41 25.2±3.3	41 252±39	41 62.4±10.5	41 4.09±0.64	41 2.73±0.41	33 1.47±0.37	33 1.23±0.25	33 1.24±0.40	39 80.0±35.9
冬	40 8.26±0.94	40 33.1±2.6	40 132.7±16.8	40 24.9±1.9	40 253±29	40 63.0±8.8	40 4.66±0.51	40 3.17±0.35	40 1.64±0.26	40 1.54±0.25	40 1.09±0.27	40 70.5±27.0
季節	TC mg/100ml	PUN mg/100ml	ALP KA単位	GOT K単位	GPT K単位	LDH W単位	InP mg/100ml	Cl mmol	Na mmol	K mmol	Ca mmol	Mg mmol
春	11 162.1±23.8	11 2.47±0.67	11 2.75±0.79	11 149.6±29.7	11 28.3±4.0	11 3030±929	11 14.54±2.47	21 120.2±7.2	23 119.4±9.8	23 1.07±0.79	23 2.72±0.81	23 1.67±0.28
夏	22 148.3±20.4	22 2.12±0.60	22 2.31±0.20	18 87.3±35.7	18 14.9±3.4	21 1883±968	19 10.71±2.21	22 118.8±7.5	22 114.0±12.7	19 2.54±1.29	22 2.56±0.28	22 1.70±0.31
秋	21 174.1±31.4	21 4.39±1.68	21 1.80±0.69	18 95.9±50.0	21 22.0±5.8	20 1744±979	21 11.76±3.49	21 115.8±4.4	21 132.7±11.3	19 1.35±0.77	21 3.06±0.59	21 1.94±0.33
冬	20 220.0±43.9	20 2.08±0.87	20 2.23±0.88	20 93.2±44.7	20 19.4±7.0	20 1190±780	20 7.16±1.64	29 123.3±10.0	25 134.1±18.4	24 1.40±0.93	25 2.81±0.40	25 1.92±0.41

米 1, 尾数, 米 2 は平均値±標準偏差

Hb:ヘモグロビン量, Ht:ヘマトクリット, RBC:赤血球数, MCHC:平均赤血球ヘモグロビン濃度, MCV:平均赤血球容積, MCH:平均赤血球ヘモグロビン量, TP₁:屈折計法による総蛋白量, TP₂:ビューレット法による総蛋白量, BCG(+):アルブミン量, BCG(-):グロブリン量, A/G:BCG(+)/(-), Glucose:グルコース量, TC:総コレステロール, PUN:尿素窒素, ALP:アルカリフォスファターゼ, GOT:グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ, GPT:グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ, LDH:乳酸脱水素酵素, InP:無機リン, Cl:クロライド, Na:ナトリウム, K:カリウム, Ca:カルシウム, Mg:マグネシウム

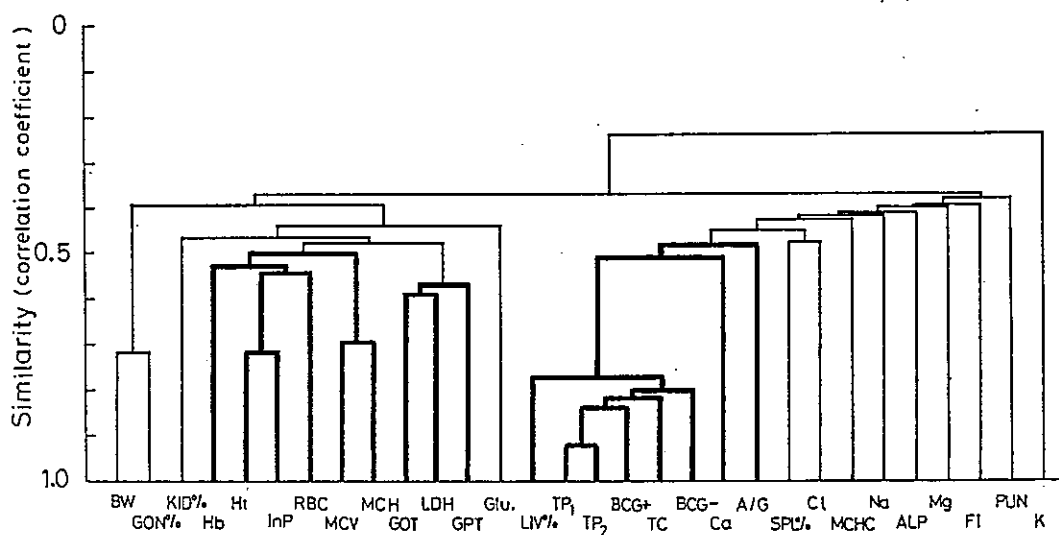


図 2-2-2 形態及び血液成分間のクラスター分析による関係

差は春期のHb, グルコースにみられた。年齢別に1.2.3年魚を比較するとHb, MCH等で年齢との関係がみられたにすぎなかった。性別では3年魚のHb, GPTで差がみられた。以上の結果、変動要因の季節, 性, 年齢の中で季節による変動が最も大きく、水温変化及び活動代謝量の増減に帰因したものと示唆された。血液成分間の関係では血液性状の項目(Hb, Ht, RBC), 酵素活性の項目(GPT, GOT, LDH), 蛋白(TP)と脂質成分(TC)との項目の3つの類似項目に分類できた(図2-2-2)。これらから野外飼育試験の血液検査に基づく健康評価は季節の影響を考慮して行うこと、特に春は性別による差を考慮すべきであることが明かになった。また、血液検査の目的に応じた項目の選択基準が示唆された。

2) 血液成分と環境要因との関係

(3) 血液成分に対する高塩分の急性、亜急性影響 (4~6)

事業所排水中には塩分が比較的高い濃度で含まれている。そのため、狭塩性魚類であるコイの血液成分が影響を受ける濃度段階を明らかにするために行なった。供試魚は群馬県産のコイ(1年魚)を用い、その体長は 78.8 ± 4.5 mm, 体重は 12.9 ± 2.2 g, 肥満度は 26.2 ± 1.8 であった。塩分濃度の設定はNaCl(試薬特級)によって0, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5%の6段階に調整した。

血清無機成分のナトリウム, クロライド量は高塩分レベルで曝露後急激に増加し, 21日目で外界水の塩分濃度に応じた高い値で平衡状態となった。その濃度レベルは0.75% NaCl溶液以上であった(図2-2-3)。またHb, RBCは

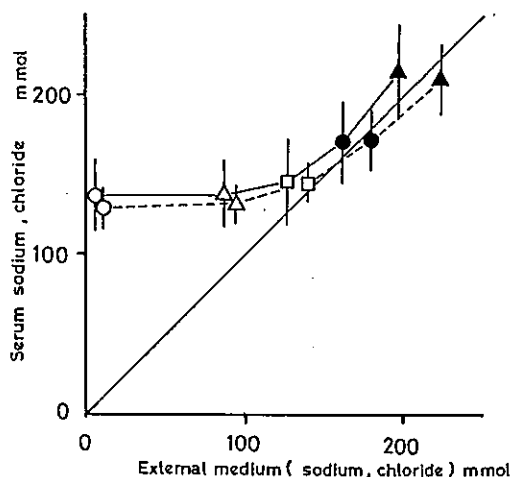


図 2-2-3 血清及び外界水のナトリウム, クロライドの関係

実線がナトリウム, 破線がクロライド
○: Control, △: 0.5% NaCl, □: 0.75% NaCl, ●: 1% NaCl, ▲: 1.25% NaCl

曝露初期に若干増加，その後21日目で0.75%NaCl溶液以上の区で低下し，低色素性正球性の貧血症状を示した（図2-2-4）。血漿成分ではグルコースが高い値を示し，総蛋白量は変化がなかったが，蛋白分画パターンは異常像を示し，最も陽極側の工分画の低下を示した。高塩分ストレス反応としてアルブミン画分に影響を及ぼした（図2-2-5）。体内の塩分調節の場としての腎臓の変化は1%NaCl溶液で15日目より，糸球体，尿細管の萎縮，退化，造血組織の変性等が現われた。以上のことからコイは体内浸透圧より高い塩分濃度に曝露されると，体内に塩分が浸入し，造血機能低下，軽度の栄養失調となり貧血症状を示す。この影響の出現する濃度段階は0.75%NaCl溶液であり，1.25%NaCl溶液以上のレベルでは個体差があるが，多くの個体で死にいたる。

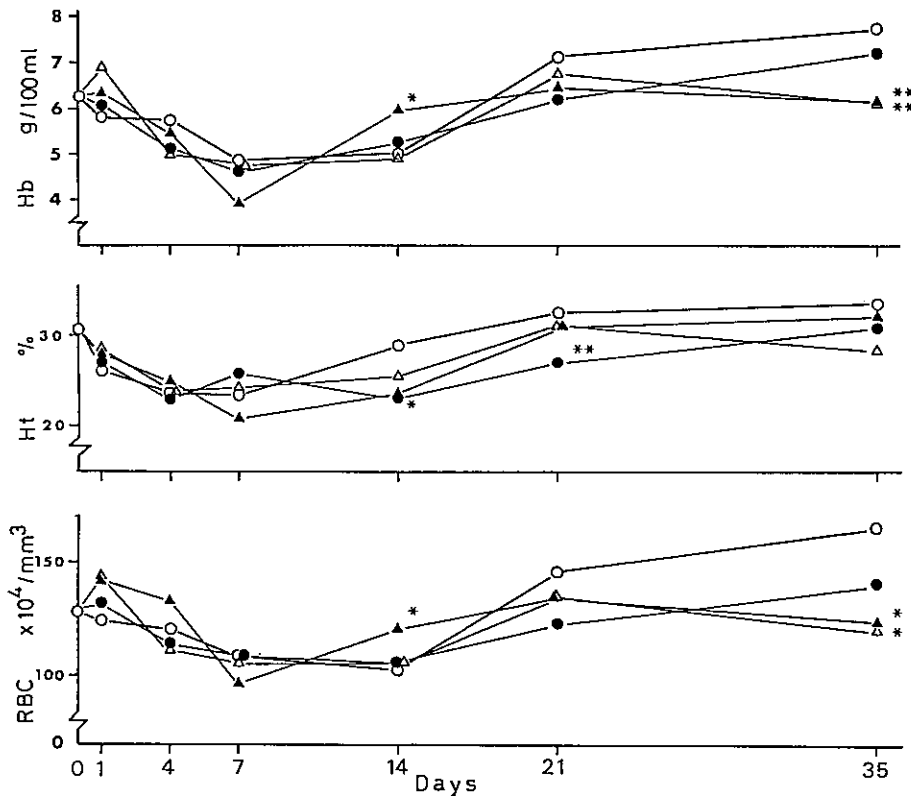


図2-2-4 ヘモグロビン量（Hb），ヘマトクリット値（Ht），赤血球数（RBC）のNaCl曝露後の経日変化

○：Control，●：0.5%NaCl，△：0.75%NaCl，▲：1%NaCl

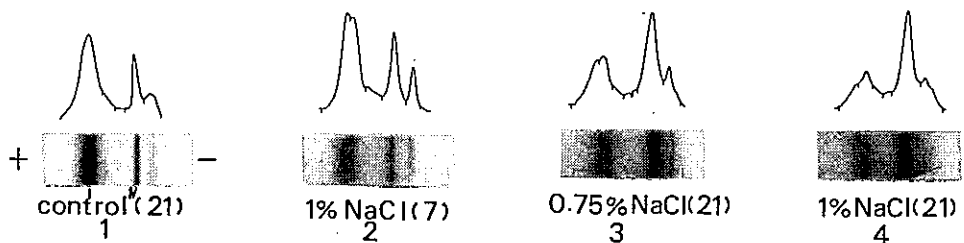


図2-2-5 血漿蛋白分画像のNaCl曝露後の変化（I分画に注目）

（ ）内の数字は曝露日数

(2) 血液成分に対する高・低水温の急性影響⁷⁾

本研究は広温性魚類であるコイが高、低水温に直接的に曝露されたときの生理学的なストレス反応を明確にすることであった。供試魚は群馬県産のコイ(1年魚)を用い、その体長は98±8(mm)、体重は23.3±5.5(g)、肥満度は24.5±1.7であった。高水温区は20, 25, 30, 35℃の4段階、低水温区が20, 15, 10, 5, 1℃の5段階に設定した。また高、低水温順化時の反応についても検討した。供試魚は曝露前1週間以上20℃の水温に順化させていた。

高水温区曝露時の初期反応は35℃区が1時間内でひん死の状態、他の水温区は高温ショック(heat shock)を反映し、Ht, TC, Na, Glucoseが高値を示し、24~96時間後では若干低下するが高水温ほど高値を示した(図2-2-6)。低水温区曝露時の初期反応は5, 1℃区が横転、ひん死の状態、他の区は低温シ

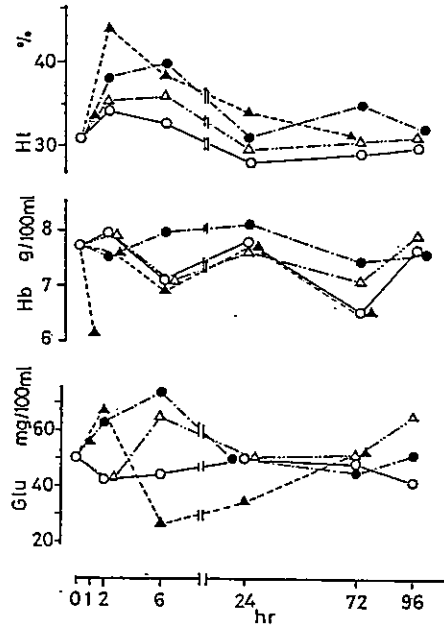


図2-2-6 高水温ショック時のヘモグロビン量(Hb),ヘマトクリット値(Ht),グルコース(Glu.)
○: 20℃, △: 25℃, ●: 30℃, ▲: 35℃

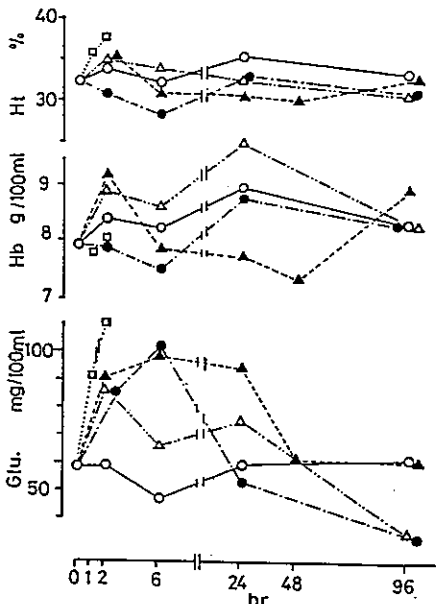


図2-2-7 低水温ショック時のヘモグロビン量(Hb),ヘマトクリット値(Ht),グルコース(Glu.)
○: 20℃, △: 15℃, ●: 10℃, ▲: 5℃, □: 1℃

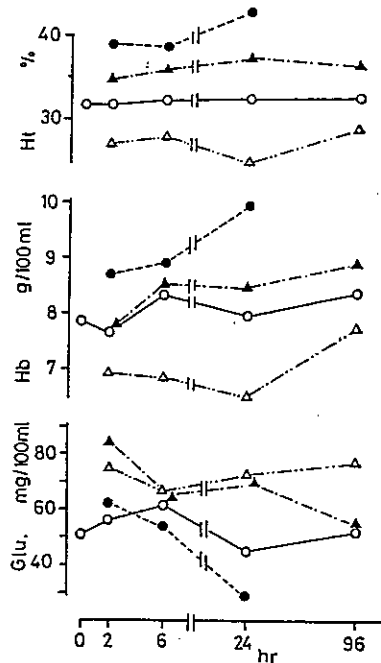


図2-2-8 高・低水温順化時のヘモグロビン量(Hb),ヘマトクリット値(Ht),グルコース(Glu.)
○: 20℃, ▲: 30℃, ●: 35℃, △: 1℃

ック (cold shock) の反応として Ht, Na が低下し, Glucose, Ca は高値を示した (図 2-2-7)。35°C, 30°C, 1°C の水温順化時では 35°C が曝露 1 日以内でひん死の状態, 30°C が Ht, Hb, TC, TP, Na, Ca 等が高値, 1°C は低値を示し, Glucose は高, 低水温区でも高値を示した (図 2-2-8)。以上から高温ショックは低温ショックよりストレスが大きい, またその影響が現われる水温差は 5°C 以上であり, 順化適応できうる範囲は低水温域でより広いことが明かになった。ただし基準水温は 20°C である。

(3) 血液成分に対する塩化アンモニウムの急性, 亜急性影響⁸⁾

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は水温, pH に影響されて低濃度でも毒性を示すことが知られている。この様なことから本研究はコイの血液成分に対して影響を及ぼす濃度段階を明かにする目的で行なった。供試魚は神奈川県産のコイ (1 年魚) を用い, その体長は 60.0 ± 7.4 (mm), 体重は 5.9 ± 1.9 (g), 肥満度は 26.9 ± 2.6 であった。濃度の設定は NH_4Cl で調整した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ の分析値でその段階をみると, 急性試験が 1.2 ± 1.1 , 3.98 ± 1.8 , 6.48 ± 5.8 , 8.32 ± 6.7 , 11.13 ± 3.8 mg/l の 5 段階で, 水温はどの区も 19.2°C, pH は 7.4 であった。亜急性試験が 1.9 ± 1.8 , 1.59 ± 2.6 , 2.92 ± 2.9 , 4.15 ± 3.2 mg/l の 4 段階で水温は 18.5°C, pH は 7.4 であった。

急性影響は 3.98 ± 1.8 mg/l $\text{NH}_4\text{-N}$ 区以上の濃度段階で Hb, Ht が低下し貧血症状を示し, TP も低値を示した。しかし量一反応関係は明確でなかった。亜急性影響は 1.59 mg/l $\text{NH}_4\text{-N}$ 区は対照区に比較して大差ないが, 2.92 , 4.15 mg/l $\text{NH}_4\text{-N}$ 区と高くなるに従って Hb, Ht は低下し, MCHC, MCV 等が低値となり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及ぼす濃度は $\text{NH}_4\text{-N}$ で 2.92 mg/l, 非イオン性アンモニアとしては 0.35 mg/l であった。 $\text{NH}_4\text{-N}$ で 5.09 mg/l, 非イオン性アンモニア濃度で 0.61 mg/l になると死にいたる場合もある。組織学的所見で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。

3) その他

麻酔剤の血液成分に及ぼす影響について検討した。⁹⁾ これは魚の取り扱い等に関して麻酔剤を使用したときとしないときでストレス反応に差があるかを検討したのであった。麻酔剤は水産用として市販されている 4-Allyl-1-2-methoxyphenol (FA 100, 田辺製薬 K.K), m-amino benzoic acid ethylester-methanesulfonate (MS 222, 三共 K.K) の 2 種類であった。FA 100 は 1/5,000, 1/2,000 の 2 段階, MS 222 は 1/20,000, 1/10,000 の 2 段階であった。

Hb, Ht は両麻酔剤とも処置しないものに比較して若干高値の傾向を示し, RBC は MS 222 の濃度が高い方で有意差があった。以上からこれら血液性状値は麻酔剤によって高値を示す傾向が示唆された。取り扱い, アバレ等により血液濃縮が起こり Hb, Ht 等が高値を示すことが報告されており, 麻酔剤はこれを軽減する方向にかならずしも働いていないことが明かになった。

文 献

- 1) 樋口文夫, 水尾寛己, 畠中潤一郎, 福島悟: コイ (*Cyprinus carpio*) の幼魚における血液性状の研究 (第 1 報), 横浜市公害研究所報, 5, 115~121 (1980)
- 2) 樋口文夫: コイ (*Cyprinus carpio*) の幼魚における血液性状の研究 (第 2 報), 血漿蛋白

- 量とセルローズアセテート電気泳動法による血漿蛋白分画の基礎的研究，横浜市公害研究所報，
6，125～134（1981）
- 3) 樋口文夫，水尾寛己，畠中潤一郎，福島悟：野外飼育におけるコイの血液成分の季節，性，年
令による変化（1），横浜市公害研究所報，10
- 4) 樋口文夫：コイ（*Cyprinus carpio*）に及ぼす塩化ナトリウムの急性，亜急性影響，横浜市
公害研究所報，4，153～160（1979）
- 5) 樋口文夫：コイ（*Cyprinus carpio*）の血液性状に及ぼす塩化ナトリウムの影響（第1報），
横浜市公害研究所報，8，73～80（1983）
- 6) 樋口文夫：コイ（*Cyprinus carpio*）の血液性状に及ぼす塩化ナトリウムの影響（第2報），
9，85～94（1984）
- 7) 樋口文夫：コイの高，低水温曝露時の生理学的反応，日本水産学会講演要旨．68（1985）
- 8) 樋口文夫：コイに及ぼす塩化アンモニウムの急性，亜急性影響（未発表）
- 9) 樋口文夫，水尾寛己，畠中潤一郎，福島悟：コイ（*Cyprinus carpio*）における麻酔剤の血
液性状に及ぼす影響，横浜市公害研究所報，5，109～113（1980）

2-3 成長量による工場排水評価手法に関する研究（水尾寛己）

はじめに

成長量により排水の影響を評価しようとする場合、試験魚の種類、系統、年令等指標魚に関する問題と、飼育水温、光条件、換水率などの飼育環境、および試験尾数、給餌条件、対照区の設定などの試験条件をどうするかという問題、その上で評価をどのように行うことが可能かという問題などについて検討を行うことが必要である。

これらの個々の問題については、いままで養殖の基礎研究としての報告が多数見られるが、成長量による排水評価手法に関する研究については比較的資料に乏しい。

本研究においては、本市で策定した試験条件、すなわち排水区（実験区）に対し、対照区を1面設ける条件における成長量による排水評価手法について検討した。

特に室内試験と違って水温等が一定でない屋外試験の場合においては、飼育水温と適正な給餌条件との関係など基礎的なことを明らかにすることなしには、成長量による排水評価は難かしいと考えられた。

実際に行った研究としては、給餌率と増重率及び飼料効率との関係、給餌率と増重率及び肥満度との関係、飼育水温と飼料効率との関係、飼育水温と肥満度との関係、餌の種類と成長との関係について実験を行うとともに、飼料効率と成長との関係について一定の考察を加えた。以下にこれらの研究成果の概要について報告する。

1) 給餌率と増重率及び飼料効率との関係について

- (1) 試験条件；試験魚；1979年7月、神奈川県淡水魚増殖試験場から平均体重1gの0年魚を購入し、その後、当研究所で10ヶ月間、水温22℃、1㎡水槽で蓄養した1年魚、試験期間133日間

試験水；脱塩素処理後の水道水、試験水槽；角型、硬質ガラス製、容積200ℓ、試験尾数；各区15尾、換水率；12回/日、水温；22℃±1℃

光条件；上面から200Wのプラントルクスを午前8時から午後5時まで照明の一定条件、側面からの光の入射はない。

試験区；3試験水槽を用いて、試験開始時から24日目までは、給餌条件が異なっていたが、その後3区とも同一給餌率とし、試験期間中0-4%の範囲で変化させた。

測定；週一回、体長・体重の測定を行うとともに、給餌率も1週間単位で設定した。但し、週のうち、1日は無給餌とした。

今回の試験においては、全量摂餌したため、日間給餌量＝日間摂餌量、日間給餌率＝日間摂餌率の関係を示した。

(2) 試験結果

試験の結果から、図2-3-1に示すように日間摂餌率と日間増重率との間に直線関係が見られた。但し、

日間摂餌量；給餌量設定時から次の設定時までの摂餌量(ΔF)÷その間の日数(n)

日間摂餌率(%)；日間摂餌量($\frac{\Delta F}{n}$)×100÷給餌量設定時の体重(W)

日間増重量；給餌量設定時から次の設定時までの増重量(ΔW)×100÷その間の日数(n)

日間増重率(%)；日間増重量($\frac{\Delta W}{n}$)×100÷給餌量設定時の体重(W)

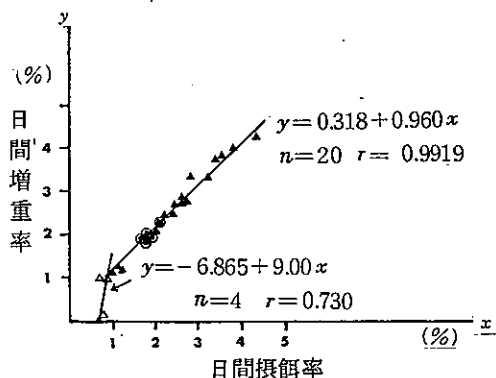


図 2-3-1 日間摂餌率と日間増重率の関係

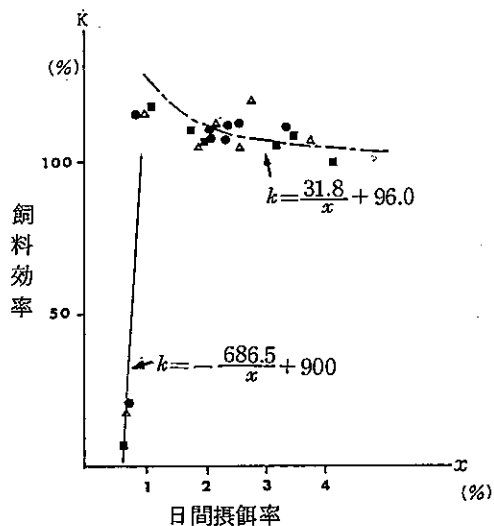
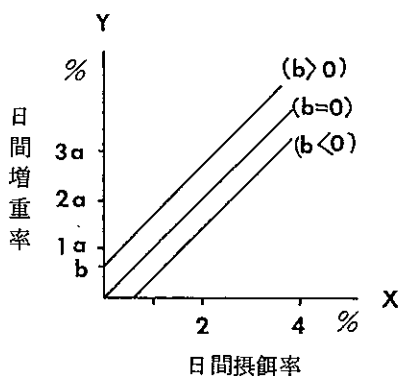


図 2-3-2 日間摂餌率と飼料効率の関係
(但し、56, 103, 128日目のデータは含まない)

$$\text{飼料効率 (\%)} = \frac{\text{日間増重量 } (\Delta W/n)}{\text{日間摂餌量 } (\Delta F/n)} \times 100$$

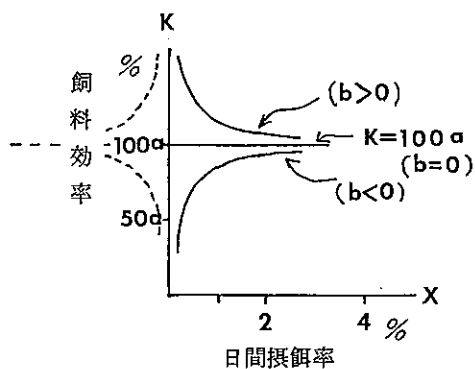
この直線関係をもとに、日間摂餌率と飼料効率について検討すると、図 2-3-2 に示すような関係が得られた。すなわち、日間摂餌率と日間増重率との直線関係の切片、傾きの程度により、日間摂餌率と飼料効率との関係が異なってくる傾向が見られた。そこで、この関係について数式的検討を行なった。日間摂餌率(X)と日間増重率(Y)の間に直線関係が認められる場合、その関係式を $Y = ax + b$ とすると、日間摂餌率(X)と飼料効率(K)の間には、 $K = \left(\frac{b}{X} + a\right) \times 100$ の関係式が成立する。これらの関係を図 2-3-3、図 2-3-4 に示した。以上より、日間摂餌率と日間増重率において直線関係が認められる場合には、飼料効率と日間摂餌率の間には、 $x = 0, K = 100a$ を漸近線とした図 2-3-4 に示すような双曲線の関係が成立し、この関係の



$$Y = aX + b$$

X : 日間摂餌率

Y : 日間増重率



$$K = \frac{100b}{X} + 100a$$

K : 飼料効率

X : 日間摂餌率

図 2-3-3 日間摂餌率と日間増重率との関係 図 2-3-4 日間摂餌率と飼料効率との関係

傾き a て Y 切片 b によって規定されていることを示し、試験結果を裏付けた。

2) 摂餌率と増重率及び肥満度との関係

(1) 試験条件 2-3, 1), (1) に同じ

(2) 試験結果 イ) 図2-3-5に示すように日間増重率と肥満度に直線関係 ($r=0.667$) が見られた。

先の2-3, 1)の結果において日間摂餌率(日間給餌率)と日間増重率の間に直線関係が見られることから、日間摂餌率(日間給餌率)と肥満度との間においても同様に直線関係が成立する。

このことは、体重当りの給餌割合を多くすると多くするだけ増重率も増し、その結果、肥満度も高くなる関係を示している。

この結果について数式的な検討を行なった。

日間増重量率は次の式で示される。

$$X = \frac{\Delta W}{W_r(n-r)} \times 100 = \frac{W_n - W_r}{W_r(n-r)} \times 100 \quad \dots\dots (1)$$

(但し、 ΔW ; 増重量 W_r ; r日目の体重
 W_n ; n日目の体重 ($n-r$); 日数)

肥満度は体重/(体長)³に1,000を乗じたものとする、r日目の肥満度は、

$$A_r = \frac{W_r}{L_r^3} \times 1,000 \quad \dots\dots\dots (2)$$

n日目の肥満度は

$$A_n = \frac{W_n}{L_n^3} \times 1,000 \quad \dots\dots\dots (3)$$

(但し、 L_r ; r日目の体長、 L_n ; n日目の体長)

以上の関係より

$$X = \left\{ \left(\frac{A_n}{A_r} \right) \left(\frac{L_n}{L_r} \right)^3 - 1 \right\} \times \frac{100}{(n-r)} \text{ が導かれる。}$$

この関係式は、 $L_n \geq L_r$ 、すなわち $\left(\frac{L_n}{L_r} \right)^3 \geq 1$ の場合、ないしは $L_n < L_r$ 、すなわち $\left(\frac{L_n}{L_r} \right)^3 < 1$ の場合のいずれにおいても体長と体重に相関がある限り、日間増重率Xと肥満度比(A_n/A_r)の間に相関関係、すなわち、日間増重率が増加すれば肥満度も高くなる関係を示す。

ロ) 又、上記の試験結果をもとに、さらに日間増重率、日間体長増加率、肥満度比について検討をおこなった。図2-3-6は、今回の試験結果をもとに日間増重率と日間体長増加率との関係を示したものである。各試験区について直線関係が見られる。図2-3-7はこの直線関係式から計算上求めた日間増重率と肥満度比との関係で、図2

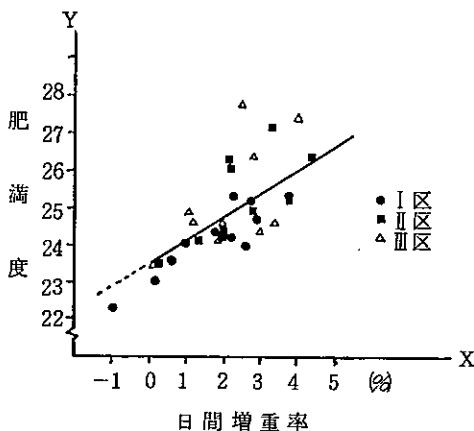


図2-3-5 日間増重率と肥満度との関係

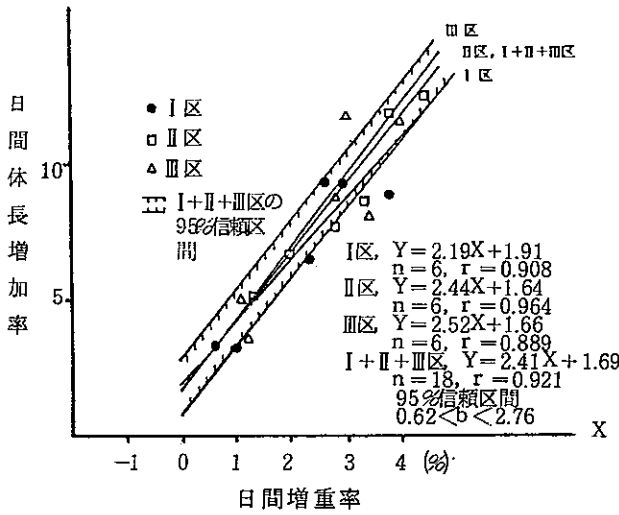


図2-3-6 日間増重率と日間の体長増加率との関係

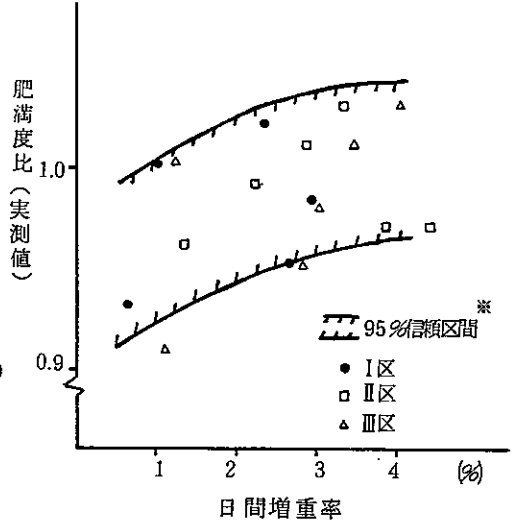


図2-3-8 日間増重率と肥満度比との関係
 ※95%信頼区間は、図-2のI+II+III区の回帰直線における95%信頼区間より算出

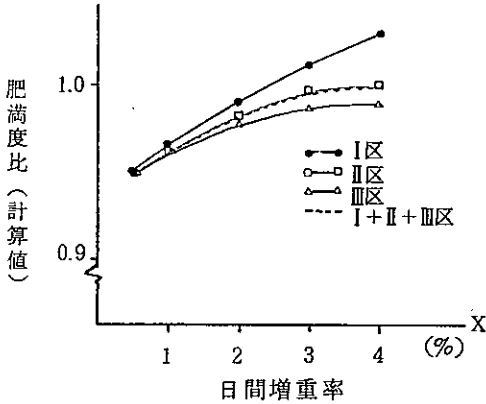


図2-3-7 日間増重率と肥満度比との関係

図2-3-8は実測値について、日間増重率と肥満度比について示したものである。この図において、日間増重率が増すにつれ、肥満度比も高くなる傾向が明らかである。逆に日間増重率が減少すると肥満度比は低くなる傾向が見られる。

ハ) 以上の関係をもとに肥満度比(F)と日間増重率(X)の関係式を求めると以下のとおりである。

日間増重率と日間の体長増加率との間に直線関係が見られるとすると、これを

$$Y = aX + b \quad (b \geq 0) \dots\dots\dots (1)$$

(但し、X: 日間増重率 Y: 日間の体長増加率 a, b: 定数) (図2-3-9)

この関係により、日間増重率と肥満度比との関係式を求めると以下の式のようになる。

肥満度比は

$$F = \frac{W_n}{L_n^3} \times 10^3 / \frac{W_r}{L_r^3} \times 10^3 \dots\dots\dots (2)$$

(但し、 W_n, L_n : n日目の体重, 体長 W_r, L_r : r日目の体重, 体長)

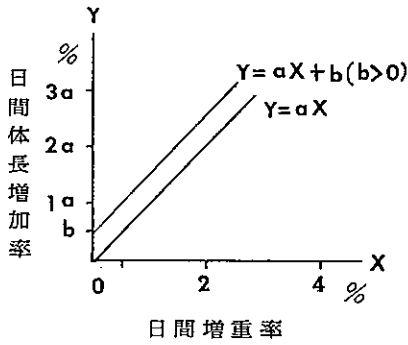
日間増重率は

$$X = \frac{W_n - W_r}{W_r(n-r)} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

(n-r: 日数)

日間の体長増加率は

$$Y = \frac{L_n - L_r}{L_r(n-r)} \times 1,000 \dots\dots\dots (4)$$



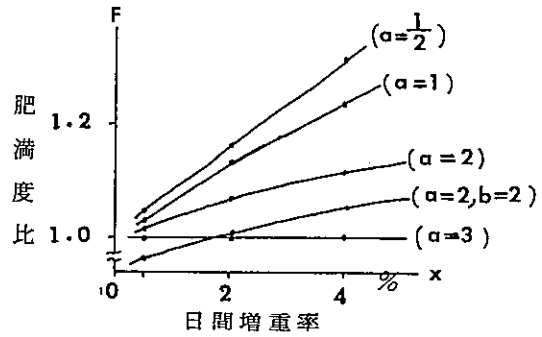
$$Y = aX + b$$

X : 日間増重率

Y : 日間体長増加率

図 2-3-9

日間増重率と日間体長増加率との関係



$$F = \frac{W_n}{L_n^3} \times 10^3 \Big/ \frac{W_r}{L_r^3} \times 10^3$$

$$; \left\{ 1 + \frac{X}{10^2} (n-r) \right\} \Big/ \left\{ 1 + \frac{aX+b}{10^3} (n-r) \right\}^3$$

(但し、図は $n-r=10$ の場合である)

図 2-3-10 日間増重率と肥満度比との関係

これより

$$F = \left\{ 1 + \frac{X}{10^2} (n-r) \right\} \Big/ \left\{ 1 + \frac{aX+b}{10^3} (n-r) \right\}^3 \quad (\text{図 2-3-10})$$

この関係式より、日間増重率と日間体長増加率に直線関係が成立する場合において、肥満比(F)は日間増重率(X)によって規定されている関係を示し、先の試験の結果を裏付けた。

3) 飼育水温と飼料効率との関係について

(1) 試験条件

- イ) 試験魚; 1980年7月神奈川県淡水魚増殖試験場から購入し、当研究所で8ヶ月間、水温22℃で蓄養した健康な1年魚
- ロ) 試験水槽; 角型、硬質ガラス型、容積200ℓ(水量100ℓ) ハ) 試験水; 脱塩素処理後の水道水
- ニ) 試験尾数; 各区10尾 ホ) 換水率 8回/日
- ヘ) 光条件; 上面から200Wのプラントルクスを午前8時から午後5時まで照明の一定条件、側面からの光の入射はない。
- ト) 試験区; 18℃と23℃と28℃の3試験区で給餌率を0~5%の範囲で変化させた。
- チ) 試験期間; 70日間
- リ) 測定; 週1回、体長・体重の測定を行うとともに、給餌率も1週間単位で設定した。但し、週のうち1回は無給餌とした。

(2) 試験結果

各試験区について、1)の所で説明したように、日間摂餌率と日間増重率との関係、日間摂餌率と飼料効率との関係を求め、それをもとに、図2-3-11、2-3-12のような関係が得られた。

図2-3-11より、①飼育水温の違いにより、日間摂餌率と飼料効率との関係に大きな違いが見られた。②飼育水温が23℃の試験区は、18℃、28℃試験に比べて飼料効率が高い傾向を示した。③又、日間摂餌率と飼料効率との関係において、各飼育水温で、日間摂餌の違いに対して、飼料効率が急激に変化する領域と比較的安定している領域に分かれる傾向が見られ、飼育水温が高いほど、飼料効率が比較的安定する領域は日間摂餌率の高い方に占める傾向が見られた。こ

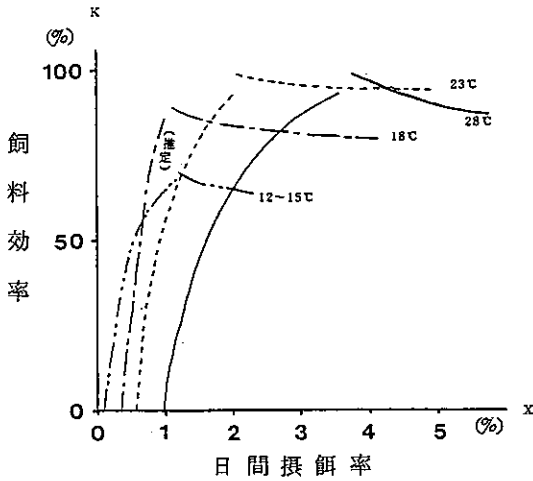


図 2-3-11 各飼育水温下における
日間摂餌率と飼料効率との関係

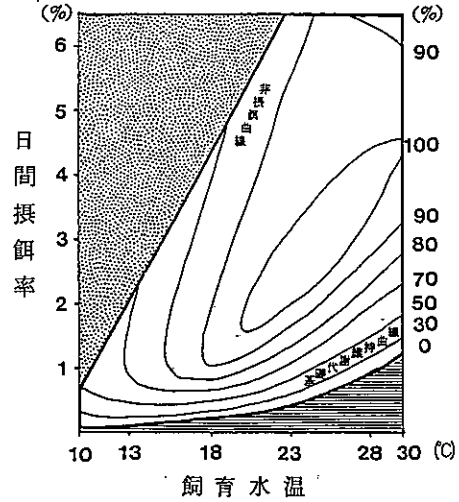


図 2-3-12 飼育水温と日間摂餌率の
違いにおける飼料効率との関係 (推定図)

非摂餌率の領域
 基礎代謝維持の領域

のことより、コイで成長試験を行う場合においては摂餌条件との関連で、飼料効率は安定している方が試験条件として望ましいわけであり、その点から飼育水温が高くなるにつれ、飼料効率との関連で日間摂餌率を多くする必要があることが明らかになった。今回の実験から適正給餌率について述べると、18℃飼育条件下では、1%以上、23℃では2%以上、28℃では4%以上の給餌が必要と考えられた。

④ 今回の結果は、図 2-3-13 に示す Brett が Sockeye

salmon (ベニザケ) でおこなった結果と冷水魚の違いという面を除いては比較的似た傾向であることが明らかになった。

又、今回の試験結果から、適正な給餌条件下で、飼料効率は±5%変動する傾向が見られた。

4) 飼育水温と肥満度との関係について

(1) 試験条件

試験魚、試験水槽、試験水、試験尾数、光条件、測定ひん度については先の 2-3-3) に同じ

試験区 12~15℃の区 2区 (A, C) と 22℃の区 2区 (B, D)

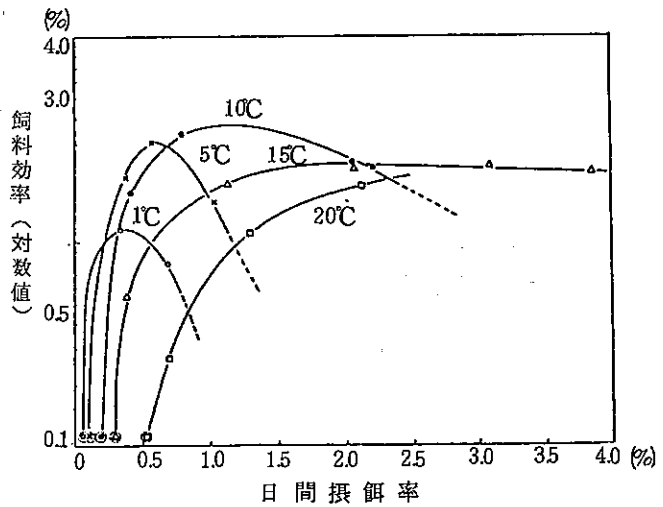


図 2-3-13 日間摂餌率と飼料効率との関係
(Brett, 1969)

試験期間 1月14日～3月9日の56日間

(2) 試験結果

水温と肥満度において図2-3-14に示すように、水温が高い区に比べ低い区の方が肥満度が高い傾向を示すことが明らかになった。又、この結果について日間増重率と日間体長増加率から検討してみた結果、図2-3-15の関係が得られた。

図2-3-15より、水温の高い区の方が低い区に比べ、日間増重率に比し、日間体長増加率が大きい傾向があることが明らかになった。この原因としては、水温が高い方が代謝活動がさかんになることによって体長が増加する一方、エネルギーの消失は多くなり、その分だけ、水温の低い条件に比べて体重の増加が少なくなることによると考えられた。

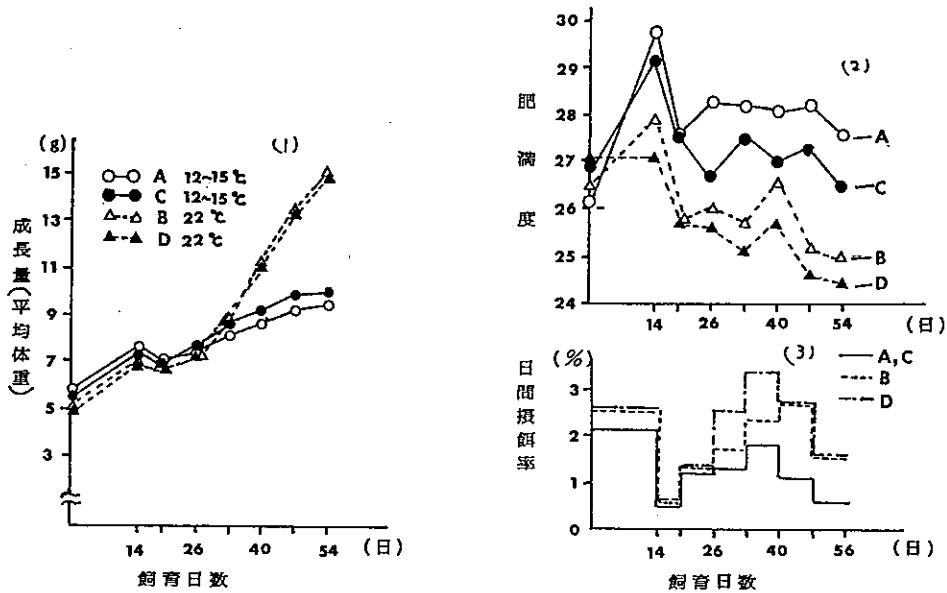


図2-3-14 水温と肥満度との関係

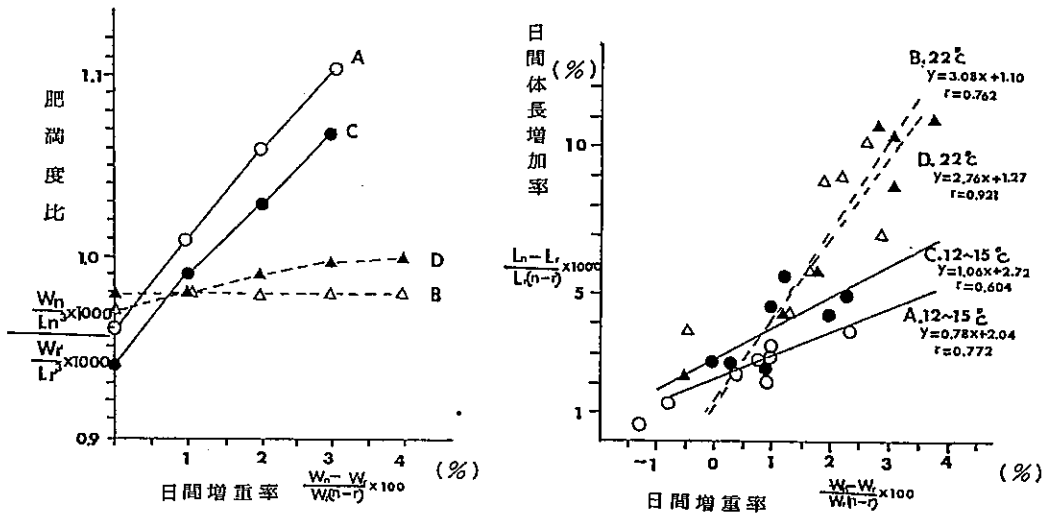


図2-3-15 日間増重率と日間体長増加率、肥満度比との関係

5) 餌の種類と成長について（未発表）

平均体長 7.2 cm, 体長 10.2 g のコイを用いて配合飼料と生餌（アカムシ）の成長の比較実験を行った。試験期間は 63 日間で、配合飼料区、生餌区それぞれ各 15 尾で試験を行った。試験結果は表 2-3-1 の通りで、配合飼料区の飼料効率 85% に対し、生餌区は 25% であった。この飼料効率の差は、配合飼料（含水率 6.64%）、生餌（74.4%）の含水率の差によるもので、それを補正すると、配合飼料区と生餌区で成長量に差が出ないことが明らかになった。

このことから現在、使用している配合飼料で、成長試験においては栄養上問題はないと考えられた。

表 2-3-1 配合飼料と生餌との成長比較試験

		配合飼料区(1)	配合飼料区(2)	生餌区(3)	生餌区(4)
飼育尾数		15	15	15	15
開始時	平均体長(cm)	7.1	7.3	7.2	7.2
	〃 体重(g)	10.1	10.4	10.4	10.0
	肥満度	27.1	26.7	27.9	26.8
	総重量	151.6	155.3	155.5	151.1
終了時	平均体長(cm)	10.5	10.6	10.9	11.0
	〃 体重(g)	29.8	30.1	28.9	31.0
	肥満度	25.7	25.3	22.3	23.2
	総重量	447.6	451	434	465
増重量		296	295.7	278.5	313.9
総給餌量		347.7	347.7	1,178	1,178
飼料効率		85.1	85.0	23.6	26.6
成長率(倍)		3.0	2.9	2.8	3.1

成長量からみた配合飼料と生餌の量の比率

$$\text{配合飼料} / \text{生餌} = 347.7 / 1,178$$

$$1 / 3.4$$

6) 飼料効率と成長との関係について一考察

一般的に飼料効率はどのくらいかに関しては、有効な資料は少ない。佐伯らによる循環汙過式養殖において飼料率が 101.3%、96.7% の成績をおさめている。その時のへい死亡率はそれぞれ 1.71%、1.2% であった。千葉によれば、網池す養殖の飼料効率は 43%、65%、72%、75% で昭和 39 年の全国平均は 70%、溜池の当才魚の飼育例では、尾数歩溜りが 52~82% にもかかわらず、飼料効率は 76~84% の値を示していた。

実際の工場の飼料効率について 工場の 54 年度の場合、飼料効率は 60~100% の値を示していた。

先の 2-3-1), 2-3-3.) 試験結果から、同一試験条件においても、飼料効率は摂餌条件によって左右され、また摂餌条件が適正な領域の場合においても飼料効率に変動が見られた。そこで、成長量で評価する場合の問題点として、飼料効率と成長量との関係について数式的な検討を行った。

飼育尾数が100尾の場合で、飼料効率が対照区を100%として、試験区が90%、85%の場合について、体重について平均値の差の検定をおこなった場合にどのような関係になるか検討した。

表 2-3-2

	1 個 体 の 初 期 重 量 給 餌 量 (平均値) \bar{X}			飼料効率	1 個 体 の 終 了 時 重 量 \bar{X} (平均値)	飼育尾数 (n)	標準偏差 σ_1	標準偏差 σ_2
対照区(A)	a g	b g	$b \gg a$	100%	$a+b$ g	100	$0.3b$ { $0.3(b+\lambda)$ }	$0.4b$ { $0.4(b+\lambda)$ }
試験区(B)	a g	b g	$b \gg a$	90%	$a+0.9b$	100	$0.3b$	$0.4b$
				85%	$a+0.85b$	100	$0.3b$	$0.4b$

終了時の平均体重

$$\text{対照区 (A)} \quad \bar{X}_A = a + b$$

$$\text{試験区 (B)} \quad \bar{X}_B = a + 0.9b \quad (\text{飼料効率が90\%の時})$$

$$\bar{X}_B = a + 0.85b \quad (\text{" が85\%の時})$$

n_A ; Aの飼育尾数 n_B ; Bの飼育尾数

σ_1 の場合で試験区の飼料効率が90%と対照区との比較について

$$\mu_0 = \frac{(\bar{X}_A - \bar{X}_B)}{b\sqrt{1/n_A} + (1/n_B)} = \frac{0.1b}{0.3b\sqrt{\frac{2}{100}}} = \frac{0.1}{0.3 \times 0.14} = 2.38 \quad \begin{array}{l} \text{で5\%有意水準で差あり} \\ \text{1\% " で差なし} \end{array}$$

σ_2 の場合で試験区の飼料効率 85%, 90%それぞれと対照区との比較について

$$\text{飼料効率 85\%の時} \quad \mu_0 = \frac{0.15}{0.4 \times 0.14} = 2.678 \quad \text{5\%有意水準で差あり}$$

$$\text{" 90\%の時} \quad \mu_0 = \frac{0.1}{0.4 \times 0.14} = 1.79 \quad \text{5\%有意水準で差なし}$$

工場における飼育終了時の σ は $0.3b \sim 0.4b$ の程度であり、飼料効率で10%以上開きがある場合に成長量における平均値の差の検定では5%有意水準で差あり、1%有意水準では差なしの関係を示した。

7) その他(未発表)

他に試験魚の年令と飼料効率との関係、無給餌における成長について、試験魚の年令と毒物に対する致死ノド比較試験、塩分の成長への影響試験などをおこなった。

試験魚の年令(0年魚, 1年魚, 2年魚)のちがった、サイズの同じものを用いた試験では、年令による成長のちがいは見られなかった。ただし、解剖学的検査から、年令が増すにつれ、成長の中で生殖腺の発達の比重が高い傾向が見られた。

無給餌試験は約35日間行なったが傾向としては体長はほとんど変化せず、体重が35日間で20%減少し、肥満度が15%低くなる傾向が見られた。又、毒物に対する致死試験では、年令がちがっても、大きさが同じぐらいの魚の場合、Cu, Zn, CNに対して、感度が同じ程度であった。塩分の成長への影響についての試験では、NaClについて実験し、5,000 mg/l以上の濃度になるとコイの成長に対する影響があらわれる結果が得られている。

文 献

- 1) 水尾寛己, 畠中潤一郎, 樋口文夫, 福島悟, 鈴木重之; コイ (*Cyprinus carpio*) における摂餌率と飼料効率について, 横浜市公害研究所報 5, 97~107 (1980)
- 2) 水尾寛己, 樋口文夫, 畠中潤一郎, 福島悟; コイ (*Cyprinus carpio*) における肥満度について — 日間増重率との関係 — 横浜市公害研究所報 7, 65~68 (1982)
- 3) 水尾寛己, 樋口文夫, 畠中潤一郎, 福島悟; コイ (*Cyprinus carpio*) における肥満度について (第2報) — 水温との関係 —, 横浜市公害研究所報 8, 81~87 (1983)
- 4) 水尾寛己, 樋口文夫, 畠中潤一郎, 福島悟; コイ (*Cyprinus carpio*) における摂餌率と飼料効率について (第2報) — 水温との関係 —, 横浜市公害研究所報 9, 95~100 (1984)

2-4 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

(水尾寛己, 磯貝純夫)

形態学的検査は、魚の健康評価を行なう上で重要な検査項目の一つである。検査の対象から外部形態と内部形態の検査に分けられ、このうち内部形態学的検査については、専門的な知識とともに組織学的な裏付けも必要とし、簡易に検査することは難しい。

そこで本研究においては、内部形態学検査において、臓器の色調等から専門家でも簡易に検査・評価できる手法について検討してきた。

これらの研究の中で、肝臓、腎臓、脾臓の正常な組織像については「魚類の健康評価に関する研究その2」で明らかにするとともに、「魚類の健康評価に関する研究その4」の中で肝臓について各工場の飼育魚の内観所見と組織学的な検討を行ない、本報告書本文「6-1、工場排水で飼育したコイの肝臓、脾臓、腎臓についての肉眼的所見と顕微鏡観察」の中に示したように、肝臓の色調変化について組織学的な面から検討を加えてきたところである。

又、簡便で専門家でも検査できる項目の一つとして、鰓についても検討を行ってきた。鰓は魚の生存にとって呼吸器官として特に重要であるとともに、外界と直接接触する部位であることから、排水の影響を見る上でも重要と考えられる。

肝臓、脾臓、腎臓、脾臓については本文6-1の中で述べたので、ここでは、鰓の形態学的研究の概要について述べる。

鰓の形態学的研究をすすめるにあたっては、まず採取法、固定法、観察法について検討を行ない、次に通常時の鰓像について検討してきた。そのうえで、いくつかの薬物を用いて通常時との比較をおこない検査項目としての有効性について検討した。以下に研究の概要を示す。

1) 鰓の採取、固定、観察手法についての光学顕微鏡観察からの検討(未発表)

(1) 魚から直接、鰓を採取し固定せず光学顕微鏡により観察する場合

○出血等により、そのままスライドグラスにのせて観察することは難しい。

○また、採取時に魚があばれると二次鰓弁がみだれたりする。

○鰓を蒸留水で洗浄してスライドグラスにのせて観察した場合、浸透圧の問題や非固定のため、時間とともに形態変化する。

(2) 魚から直接、鰓を採取し、10%中性ホルマリン溶液で固定した場合

○鰓の中を流れる血液とホルマリンの浸透圧の差から形態変化をおこす

○通常はホルマリンの浸透圧は血中浸透圧より低いいため、鰓形態は二次鰓弁上皮が浮腫に類した形態変化を示す場合が多い。

(3) 魚を直接、10%中性ホルマリンに入れ、その後、鰓を採取する方法

○この方法は、10%中性ホルマリンの中で魚がかなりあばれてしまい、それによる二次鰓弁の形態変化をおこし、通常の鰓形態の観察は難しい。

(4) 魚を延髄刺し、弱らせてから、魚を10%中性ホルマリンに入れ、その後、鰓を採取する方法

○この方法では10%中性ホルマリン中で魚があばれることはないとともに、固定液と血液との浸透圧の差からくる形態変化も防止できる。鰓の採取は10%中性ホルマリンで、ある程度固定が進んでから、ピンセットで鰓弓をはさんで鰓弁を傷つけないようにして引き抜

く。光学顕微鏡で観察する場合、固定時間が10分以上になると光の透過力が悪くなり、観察しにくくなるので、固定後5分から10分以内にすみやかに観察し、その後、観察した鰓を固定液に戻す。

(5) 固定液について

形態学的、組織学的固定液としてはホルマリンよりも、ヴァン液、オスミウム酸が用いられる場合が多いが、これらの固定液はホルマリンと異なり透過力が全くなくなり、光学顕微鏡観察は不可能である。中性ホルマリンを用いた場合、光学顕微鏡で多くの試料が観察でき、そのうち特徴的な傾向については組織切片や電子顕微鏡観察試料を作成し観察することにより、光学顕微鏡観察結果との比較も可能となる。

(6) 観察方法について

10%中性ホルマリン溶液で固定した鰓を軽く水にふれてから、ホールスライドグラスに鰓をのせて水を数滴加えてから、顕微鏡観察を行なう。

(7) 観察部位について

鰓の形態像は第1鰓片と第2～第8鰓片で異なることから、観察部位としては第3～4鰓片からなる第2鰓弓、第5～6鰓片からなる第3鰓弓の鰓弁を用いるのがいい。(Fig1, Fig1')

2) 通常の鰓形態像についての検討

魚の鰓は呼吸器官として重要なことから、溶存酸素量との関係で鰓の形態が変化する可能性が考えられた。そのため、通常の鰓の形態像を把握する手法として、低酸素時及び過酸素時における鰓

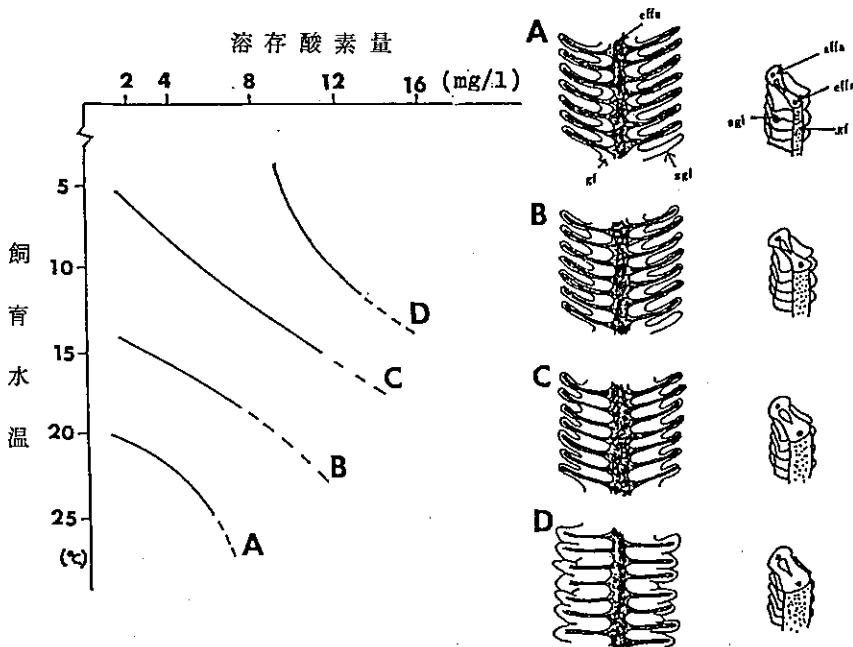


図2-4-1 飼育水温および溶存酸素量の違いと鰓の形態との関係

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。

の形態像について検討した。その結果、酸素量との関係で形態変化を単純におこすのではなく、飼育水温とも関連することがわかり、これらの関係について図2-4-1に示すような結果が得られた。すなわち、水温が低く酸素が十分ある場合には、Dのような形態を示し、水温が高く酸素が少ない場合は、Aのように一次鰓弁上皮、二次鰓弁上皮は収縮し、容易に酸素が取り込める形態に変化を示す。

又、絶食時における鰓形態像（未発表）についても検討した。結論としては、形態学的に、低水温、過酸素時の像、図2-4-1、Dと類似の形態を示した。その後、回復試験を行なうと、鰓形態は通常時の図2-4-1、Bのような形態に戻った。

低水温、過酸素時（絶食時）の鰓像をFig2、通常の鰓像をFig3、高水温、低酸素時の鰓像をFig4に示すとおりである。

以上から、鰓は、飼育環境に適応していくために形態変化による調節をおこなっていることが明らかになった。このことから、薬物等の影響を考える場合、その時の魚の生息環境（溶存酸素、水温等）を考慮しておこなうことが必要と考えられた。

3) 残留塩素、重金属等薬物と鰓形態（未発表）

薬物による鰓への影響に関しては、アンモニア、硫酸亜鉛、残留塩素、界面活性剤、重油、Cu、Cd、オゾン、ホルマリン、ニッケル、クロムなど多くの研究報告がある。これらの多くは組織学的な面からの研究で、直接鰓を光学顕微鏡で観察した報告は乏しい。

そこで、薬物等の影響を鰓の顕微鏡観察で通常時の鰓との区別が可能か、いくつかの薬物について検討してみた。薬物の鰓への影響は、同一の物質でも、濃度と作用時間及び個体差により、現われ方は異なってくる。ここでは、簡易に観察できる例として残留塩素、青酸カリ（CN）、硫酸亜鉛（Zn）、硫酸銅（Cu）、塩化アンモニウム（ $\text{NH}_4\text{-N}$ ）等について示す。

Fig 5は、残留塩素 $1\text{mg}/\ell$ に20分曝露した時のもので、二次鰓弁が浮腫をおこしている。濃度及び曝露時間により鰓の色は淡色する。（色見本2.5 R 6.5/8.5よりうすい）

CNについては、形態学的には低酸素時と類似の形態像を示すが、濃度が $0.25\text{mg}/\ell$ になるとFig 6のように二次鰓弁のならば方がやや不規則になり、低酸素時の鰓と区別できる。

又、死亡後、低酸素時の場合、鰓形態変化が比較的少ないのに対して、CNに曝露した魚の場合は、形態が破壊してしまう場合が多いので容易に区別できる。

Znについては、 $10\text{mg}/\ell$ に24時間曝露した場合、二次鰓弁が浮腫おこしたり、Fig 7に示すように鰓弁の壊死崩壊が見られた。

Cuについては、Fig 8に示すように $1\text{mg}/\ell$ に20分間曝露した場合、鰓弁、二次鰓弁において出血をおこしているため通常時の鰓と区別は容易である。

Fig 9は NH_4cl として $450\text{mg}/\ell$ に4時間曝露した時のものであるが、二次鰓弁に浮腫が見られ、通常時の鰓と区別できる。濃度によっては、二次鰓弁の先端部で出血をおこす。

Fig 10は、大岡川観音橋付近でコイがへい死した事故時の鰓の写真であるが、原因は不明であるが、通常時の鰓と異なり、一次鰓弁の血管系に異常が見られ、他の水系の事故時にも見られている。

以上、いくつかの薬物を例に形態学的な面から通常時の鰓との比較を行ってきたが、光学顕微鏡の鰓の観察により薬物の影響の評価はかなり可能と考えられる。

4) 工場排水で飼育したコイの鰓形態の所見

A工場の排水区の飼育魚においてFig 11に示すような一次鰓弁の一部が拡張した像が毎年見られる傾向があった。対照区においては見られなかった。しかし、ここ数年、工程系の生産量減に比例し、水質が良好となり、鰓形態異常の程度が軽くなってきている。

D工場の飼育魚については、対照区魚の鰓の二次鰓弁に浮腫が見られることが多く、Fig 5のような形態像を示し、残留塩素の影響が考えられた。

B, C, E工場の飼育魚については、鰓形態に特に異常は見られなかった。

文 献

- 1) 水尾寛己；酸素欠乏・過多、及び残留塩素曝露時におけるコイ (*Cyprinus carpio*) の鰓の形態変化について、横浜市公害研究所報, 4, 143-152 (1979)
- 2) 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)

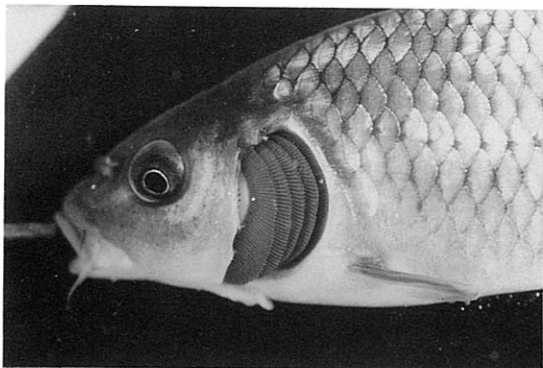


Fig 1. 魚の鰓

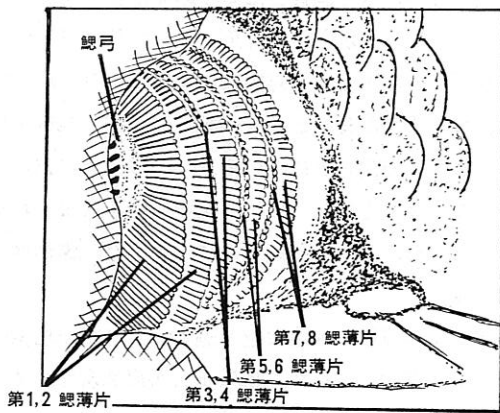


Fig 1' 鰓の模式図

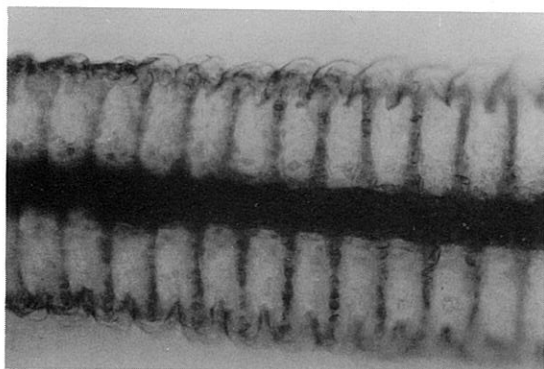


Fig 2. 低水温, 過酸素及び絶食時の鰓

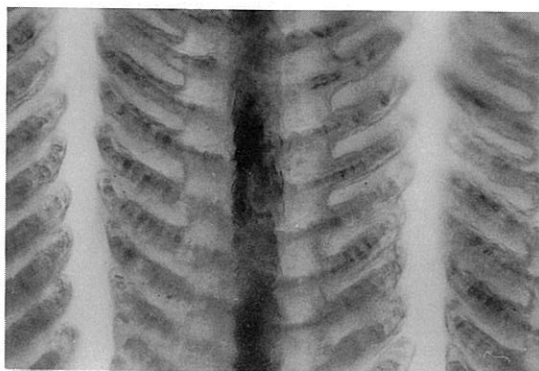


Fig 3. 通常の鰓

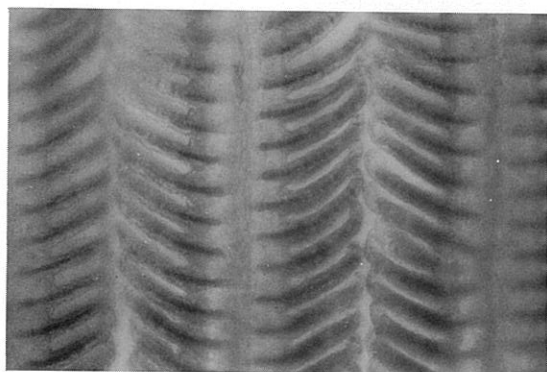


Fig 4. 高水温, 低酸素時の鰓

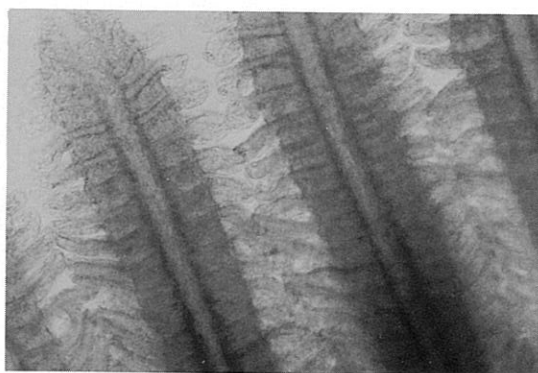


Fig 5. 残留塩素 1mg/l に20分
曝露時の鰓

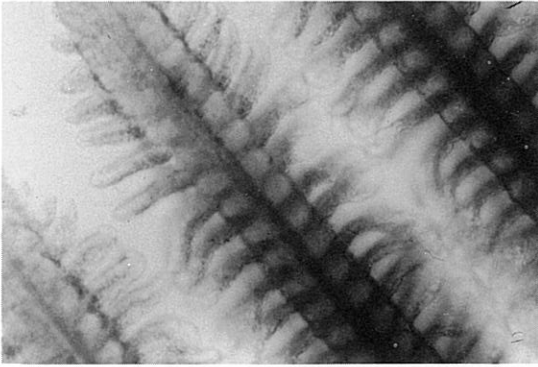


Fig 6. CN 0.25 mg/l に曝露時の鰓

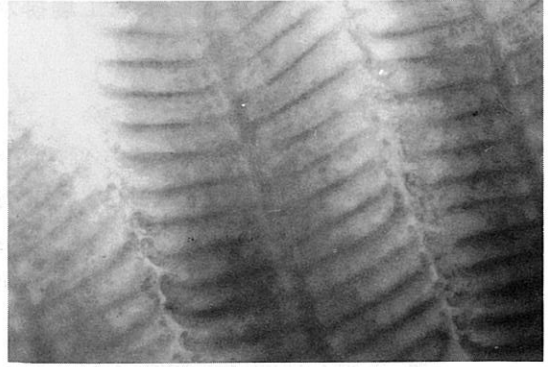


Fig 7. Zn 10 mg/l に曝露時の鰓

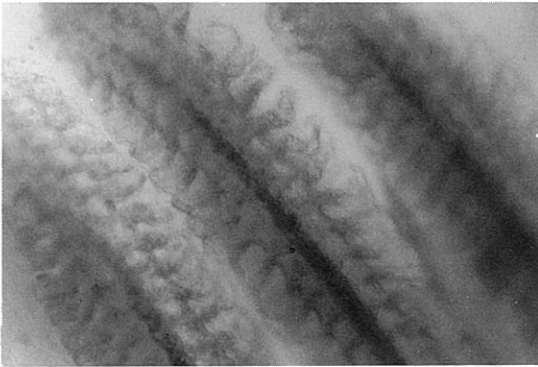


Fig 8. Cu 1 mg/l に 20 分間曝露時の鰓

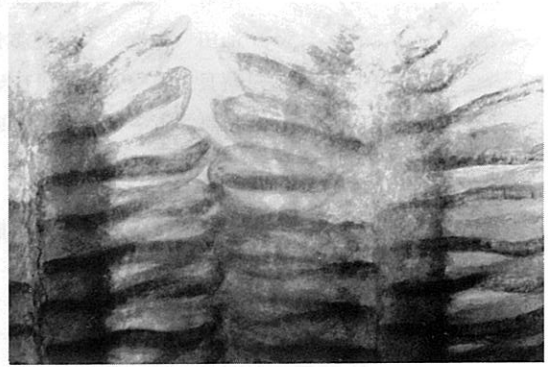


Fig 9. NH₄-N 450 mg/l に 4 時間
曝露時の鰓

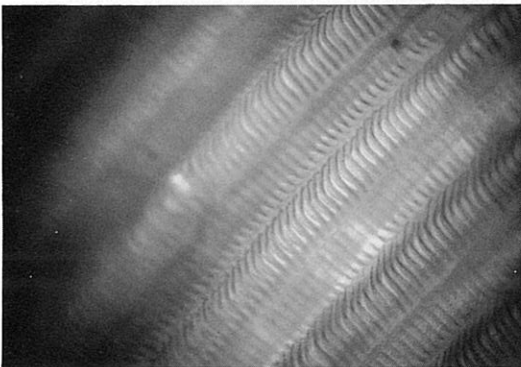


Fig 10. 魚のへい死事故時の鰓

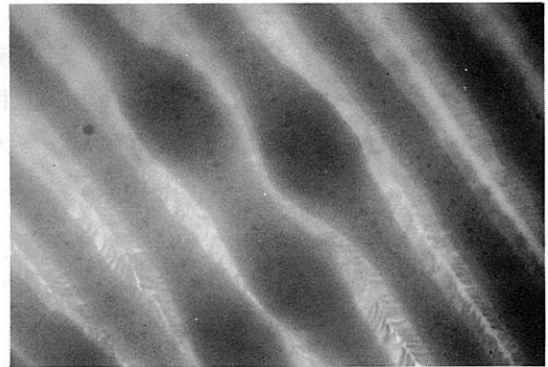


Fig 11. A工場排水区飼育魚の鰓

魚類指標による工場排水規制手法に関する検討委員

第1,2期(1975.4～1981.3)

魚類指標排水規制基礎研究会

代表	四竈 安正	前観音崎水産生物研究所長
	尾崎 久雄	前東京水産大学教授
	田端 健二	現東海区水産研究所第1放射線室室長
	鈴木 規夫	前神奈川県淡水魚増殖試験場, 現神奈川県農政部水産課技幹

第3期(1981.4～1985.3)

魚類の健康評価基礎研究会

代表	四竈 安正	前観音崎水産生物研究所長, 前観音崎自然博物館館長
	幡井 勉	現東邦大学名誉教授, 現観音崎自然博物館館長
	尾崎 久雄	前東京水産大学教授
	池田 弥生	現東京水産大学教授
	磯貝 純夫	現観音崎自然博物館館員
	磯貝三重子	現観音崎自然博物館館員

魚類指標による工場排水規制手法検討準備委員

第1期～3期まで共通

水尾寛己, 樋口文夫, 畠中潤一郎, 福島 悟, 斉藤治子(公害研究所水質部門)
山口一誠, 阿久津 卓, 佐野定男 (公害対策局水質課)

第1, 2期

鈴木重之*, 近藤純三郎**, 広田勝彦***, 野木一男, 大場栄次(公害研究所水質部門)
森 清和(公害研究所社会科学部門), 飯島春雄(公害対策局水質課)

第3期

斉藤克夫, 石井哲夫(公害研究所水質部門)
野口弘行, 平本俊明, 宗像美代子(公害対策局水質課)

* 現下水道局水質管理課, ** 現水道局小雀浄水場

*** 現公害対策局環境管理室

魚類指標による工場排水規制
手法に関する研究

1986年2月

編集・発行 横浜市公害研究所
〒235 横浜市磯子区滝頭1-2-15
電話 045-752-2605

横浜市広報印刷物登録第600236号

類別分類 A-GA060

印刷 (株) 柏 苑 社
〒232 横浜市南区通町1-6
電話 045-711-5600