

パルプ工場廃水の水産生物に及ぼす  
生理学的影響に関する研究

藤 谷 超

Physiological Studies on the Effects of  
Pulp Mill Wastes to Aquatic Organisms.

Masaru FUJIYA

In the recent years, water pollution troubles concerned with fishery have been increased with expansion of industries, especially on pulp industry. The hydraulic and chemical investigations have been carried out to estimate the effects, but only few one has studied biologically, especially on physiological investigations. Believing that it is necessary for the estimation of the effects to determine the physiological effects upon the organisms. Hence, the effects of the wastes to fish, bivalves and algae as the important aquatic organisms were studied physiologically.

**The estimation of the effects to fish.**

It is said that there are some differences among the effects of the wastes to physiological functions of fish according to the kinds and the concentrations of wastes. The most serious effect is a stop of the function, that is, death. Many kinds of effect must be given to fish when they are affected by the waste, even if they still survive. It must be necessary for the reasonable estimation of the effects to determine the effects to the physiological functions, and following investigations were done. Although several kinds of fish were used as the test materials, *Mylio macrocephalus*, *Chrysophrys major* and *Cyprinus carpio* were mainly used.

*Hematologic and serologic investigations.*

The respiratory organ of fish, gill, is in contact with water as their living environment. This is one of important characteristics of fish, although their circulatory system is approximately same in comparison with terrestrial animals.

Therefore it is valuable for the estimation of the effects that hematologic and serologic investigations are carried out.

As the hematologic investigations, the changes of hemoglobin content, resistancity of red blood corpuscle to osmotic pressure, specific gravity, and red blood corpuscle numbers were observed. On the other hand, the paper electrophoretic serum separation was applied estimating the change of serum protein composition as a serological investigation.

According to these, it was determined that the fishes exposed to low concentration of the waste were under suffocating condition, and anaemia and the harmful change of serum protein composition were remarkable symptoms on fishes exposed to the high concentration waste. It was believed that the effects to circulatory system were very serious and remarkable.

#### *Histo-pathological and cyto-chemical investigations.*

Admittedly, the functions of visceral organs are quite important for the organisms. The living activity must be declined if the effects influence to the organs and physiological functions are obstructed. Histo-pathological and cyto-chemical investigations on gills, liver, Pancreas, spleen, kidney and intestine were carried out to estimate the effects to the physiological functions of the visceral organs.

As the results, following symptoms were observed: accelerative secretion of mucus of the gills, decrease of glycogen and RNA (Ribose Nucleic Acid) in hepatic cells, decrease of RNA in pancreatic cells, accelerative secretion of mucus on the epithelium of intestine, as the effects of the low concentration of the waste. In addition, necrosis of gill filament cells, disappearance of glycogen and RNA in hepatic cells, of RNA in pancreatic cells, changes of biliary duct and arterial vessel, hemorrhage of spleen, and necrosis of uriniferous tubules cells were found out as the symptoms by the high concentration waste. And also, necrosis of epithelium in intestine was a kind of remarkable symptoms on only marine fish. At the same time, the toxic material contained in the waste was determined with histo-pathological and cyto-chemical methods.

The fish exposed to the waste treated with coagulants such as acidic substance and ferric chloride had nothing to be affected. In addition, the symptoms occurred by the effect of the resinous substance separated from the waste were very much similar to be ones by the waste. Thus, it was determined that the resinous substance was estimated as one of the strongest toxic materials to fish.

#### *The effects to the dehydrogenating reaction of visceral organs.*

The remarkable expansion of the studies on the dehydrogenating reaction has been recognized, particularly the reaction of succinic dehydrogenase has been applied in many research fields. It is said that dehydrogenase exists in mitochondria of cells and has the most important function for the respiration of cells. The pathology in medical science has applied this reaction to evaluate the harmful effects of many kinds of disease and the contributions are notable. In this experiment, T. T. C. (2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride) was used and the reactions on liver, kidney, intestine and gill were measured. It was considered that the physiological function of the liver was affected notably by the waste, for the reaction on the liver was declined. It was doubtless that the physiological function of fish were affected seriously by the waste.

#### **The estimation of the effects to bivalves.**

In general, bivalves have only few moving ability and they cannot avoid the unsuited condition such as the influence of pollutants.

Therefore, the effects to them would be physiological problems, and physiological investigations to estimate the effects are specially valuable on bivalves.

#### *The effects to the metabolism of calcium absorption.*

Calcium is one of the most important substance for the growth of bivalves, and the velocity of calcium absorption into the flesh was observed to evaluate the effects of the waste. The radioisotope Ca-45 was dissolved into the seawater mixed with the waste in various concentration, in which the samples were cultured. After certain time, they were resolved with nitric acid by wet ashing method, and the precipitation of calcium compound from the solution with ammonium oxalate was gathered up on a filter paper set in a pranchette.

Absorbed calcium quantities were determined by G-M counter for the radioactivity. It was observed that the quantities of absorbed calcium in the flesh were on the decrease. As the

causes of decreasing of calcium absorption, two results were obtained. The bivalves close the shells to decrease the absorption when they are exposed to the low concentration waste, even if the effect is not serious harmful for their physiological functions. On the other hand, the physiological function was affected to decrease the absorption by the high concentration waste. In either cases, it is sure that the existence of the waste in the environmental condition is a harmful effect for their growth.

In addition, it must be noted that the protective action of the shell against toxicants contained in water is one of the considerable factors when the bioassay to evaluate the effects of toxicants will be done on bivalves.

#### *The effects to dehydrogenating reaction of bivalves.*

In this experiment, the body from which removed the adductor muscle and the gills was used for the evaluation by the same method of the fish investigation on oyster exposed to the waste of various concentrations. The proportion of the reaction was decreased with increasing of waste concentration. It is doubtless that the physiological function is affected by the waste, because dehydrogenating reaction is one of the most important for the metabolism. It may not only affect the physiological function of the organism, but also may be connected with the poor development that the waste gives the harmful effects to the organism.

#### *Histo-pathological and cyto-chemical effects to visceral organs.*

The structures of bivalves are simpler than fish and underdeveloped. However, it has same values for the estimation of the effects to observe the changes of the structures histo-pathologically and cyto-chemically. Oyster, *Ostrea gigas*, was used in this experiment, for it is one of important fisheries' products, at the same time, a typical Lamellibranchia. As the symptoms occurred by the waste, the serious changes were observed in the following organs and tissues: stomach, intestine, digestive diverticula, gill and connective tissue surrounding body, particularly on gills and digestive diverticula.

In addition, RNA in digestive diverticula was on the decrease, and it is considered that the ability of protein synthesis is obstructed.

The symptoms were caused by the toxic material contained in the waste as same as fish case, and the resinous substance was estimated as a kind of the toxicants. It was observed that the toxic substance raided into the body by two ways, taken through the alimentary canal and penetrated the surface of the body.

#### **The estimation of the effects to algae.**

As laver is one of the most important algae in Japanese fisheries' products, the effects to this organism were investigated in this experiment.

#### *The effects to phosphate assimilation as a basic metabolism of laver.*

The phosphorus compound is a kind of the most important nutrients for the growth. Then, the velocity of the phosphorus assimilation as a physiological function was observed to evaluate the effects.

The phosphate ( $KH_2PO_4$ ) contained the radio-isotope P-32 (specific activity:  $1-2\mu c/mg$ ) was added into culture medium and lavers were grown in it after exposure to the waste of various concentrations. After certain hours, P-32 in lavers was measured by C-M counter, resolving the lavers by wet ashing method, to determine their activity for phosphorus assimilation.

It was observed that velocity of the assimilation was affected by the waste, according to the result it was supposed that the physiological function concerned with nutritional assimilation was

influenced remarkably.

*The effects to dehydrogenating reaction.*

The dehydrogenase in algae cells is concerned in the cell respiration as same as animals' and the reaction indicates the living activity of the cells, and the effects were evaluated with the reaction. The reaction was affected seriously by the waste. It was considered that the physiological function of the cells was influenced by the waste.

*Cytological observation to estimate the lethal effects.*

In general, the structure of sea algae is simple and underdeveloped, especially on a laver. The leaf is a kind of cell group and it is estimated that unsoundness of the cells is of the organisms, and a cytological effect was determined in this experiment. The lavers exposed to the waste in various concentrations were operated with Molish reaction.

The affected cells can be distinguished from normal ones microscopically by the reaction. The lethal effect of the waste was occurred with the high concentration but did not be observed on the samples exposed to the low concentration waste.

According to the results of the experiments mentioned above, the fundamental problems on the effects of pulp mill waste to the aquatic organisms are estimated as follows:

It is possible to estimate that the physiological functions of the organisms are affected by the waste and these affections exert many kinds of evil influence upon the organisms. In particular, the decrease of RNA may be estimated that the waste gives the harmful effect on protein synthesis, and also the decrease of glycogen shows that glycolysis in the organisms is expedited by what is existed in the waste, influencing the metabolism of glycogen. It may be considered that the waste has a harmful effect on the development of the reproductive function as well as growth, which must bring to fishery a decrease in production. In addition, many kinds of effect observed in this study show that the effects of the waste upon the organisms are caused by the action of toxic material in the waste. It is estimated that it is the most proper way for the treatment to eliminate the resinous substance as a toxicant,

It is certain from these results that the toxic substance in the waste produces deterioration in each organ through the circulatory system and the alimentary canal on fish, and through the surface of the body and the alimentary canal on bivalves. These results are interesting and significant for the estimation of the effects upon the organisms.

In regard to the relation between the concentration of the waste and the effects on the organisms, the effects of the waste can be estimated as follows; The most serious effect, the histo-pathological changes of tissues in visceral organs such as necrosis and desquamation and so on, were caused by the contaminated water of more than 50 mg/L in COD value, and more slight symptoms, cyto-chemical changes such as the decrease of RNA in pancreas and the accelerative secretion of mucous gland and so on, were caused by the water with more than 10 mg/L in COD value.

For the foregoing reasons, the physiologically effective dose of pulp mill waste to the organisms is estimated to be the concentration of 10 to 50 mg/L in COD value. It is notable for the estimation of the effects that the effective dose is very low. It may be better way for the determination of safe concentration to apply the results in the future, although the results of evaluation for TLm value are used estimating the concentration at present. It must be necessary for the reasonable estimation of the effects to the organisms that the research of physiological effects are carried out as same as ecological ones to advancement of this study field.



It is found that the symptoms observed on marine fish affected by the waste have different characteristics on the symptoms observed in the intestine as compared with fresh water fish.

These are not only brought with the differences of their biological character but also with that of their environmental conditions. Therefore, they cannot be put in same category on the estimation of the effects.

It is also necessary that fisheries' technique must be studied to protect the organisms against the influence of wastes in the future, especially on aquicultures.

## 目 次

	頁
<b>第一章 序論および研究史</b> .....	7
1. 序 論.....	7
2. 研究史.....	8
<b>第二章 産業廃水の影響の現われ方</b> .....	10
1. 廃水の影響の現われ方の概要.....	10
2. パルプ廃水の影響の現われ方.....	11
3. 廃水の水生生物に対する影響の現われ方と生理学的研究の意義.....	13
<b>第三章 魚類に対する影響の評価</b> .....	15
1. 魚類の循環器系に対する影響を評価するための血液学的および血清学的研究.....	15
緒 言.....	15
研究方法.....	15
研究結果.....	17
2. 魚類の主要器官に対する影響を評価するための病理組織学的および細胞化学的研究.....	28
緒 言.....	28
研究方法.....	28
研究結果.....	29
3. 魚類の主要器管内脱水素酵素反応におよぼす影響.....	33
緒 言.....	33
研究方法.....	33
研究結果.....	34
4. 論 議.....	35
摘 要.....	40
<b>第四章 貝類に対する影響の評価</b> .....	41
1. 貝類の代謝機構の基礎としてのカルシウム代謝におよぼす影響.....	41
緒 言.....	41
研究方法.....	41
研究結果.....	42
2. 貝類の生体内脱水素酵素反応におよぼす影響.....	48
緒 言.....	43
研究方法.....	48
研究結果.....	48
3. 貝類の主要器管におよぼす病理組織学的および細胞化学的影響.....	50

緒 言	50
研究方法	50
研究結果	50
4. 論 議	53
摘 要	56
<b>第五章 藻類に対する影響の評価</b>	<b>53</b>
1. 藻類の栄養代謝機構の基礎としての磷吸収におよぼす影響	53
緒 言	53
研究方法	53
研究結果	53
2. 藻類の細胞内脱水素酵素反応に対する影響	66
緒 言	63
研究方法	63
研究結果	65
3. 藻類におよぼす影響を評価するための細胞学的研究	69
緒 言	63
研究方法	69
研究結果	70
4. 論 議	71
摘 要	72
<b>第六章 パルプ工場廃水の水産生物におよぼす影響に関する論議および結論</b>	<b>73</b>
1. パルプ工場廃水の水産生物におよぼす生理学的影響の本質と水産業上現われる被害との関連	73
2. パルプ廃水の水産生物におよぼす生理学的影響の解析	74
3. 生理学的影響と生態学的影響の関連	74
4. クラフトパルプ廃水とサルファイトパルプ廃水の毒性の比較	75
5. 海産魚と淡水魚の影響の現われ方の相異	75
6. 廃水濃度の表現方法	76
7. パルプ廃水の急性毒作用および慢性毒作用と生理学的影響との関連	76
8. 安全濃度の評価方法に対する提言	77
9. パルプ工場廃水の水産生物に対する影響の評価	77
10. 水産技術の上から見た防除対策	79
摘 要	80
総 括	81
文 献	82
図 版	1—XXV

# 第一章 序論および研究史

## 1 序 論

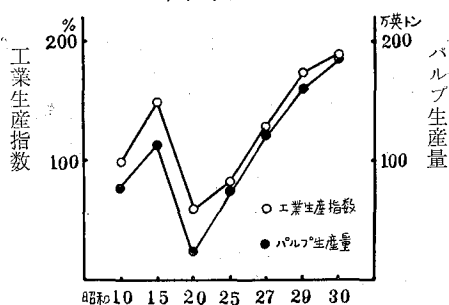
廿世紀に入ってから科学の進歩は、過去100年に亘って人類が果し得なかつた発展を急速に成し遂げたといわれ、まことに目覚ましいものがある。その科学の発展と共に産業時に工業の発展は急速に上昇して現在に及んでいる。科学の発展と、それに伴う工業の発展は人類の福祉繁栄に偉大なる貢献をなしているが、一方において、これらの発展が人類の生活の障害となっている部面をも認めることができ、その障害も種類によっては看過することができない事態に及んでおり、その一つに水産業に及ぼす産業廃水の影響をあげることができる。各種の廃水と水産業との関係は意外に古く、そこから生ずる種々の問題はすでに約一世紀の歴史を経過して、その間には産業の発展の段階に応じて偏歴があった。

本邦における廃水問題は欧米における廃水問題と根本的に相異があり、欧米においては水の利用、公衆衛生の面から出発し、この問題を解決しながら水産の問題をも考慮しているのに反して、本邦における廃水問題の出発点は水産業との関連が主な対象となっている点大きな相異がある。いうまでもなく、本邦の産業形態の中で水産業の占める地位は欧米のそれと比較にならぬ程大きなものであるから、本邦における廃水の問題を検討するに際しては、常にこの点を度外視することはできない。

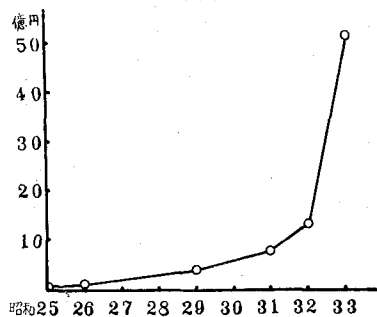
廃水問題の推移もその時代と共に変わって、当初は航行船舶の投棄物であるとか、産業としても原始的な時代にはごく小規模のものであったが、近代工業の発展と共に各工業の規模も拡大され、問題も大きくかつまた複雑化してきている。このように、産業廃水の問題が今後ますます増大して行くことは過去における廃水問題の推移が示しており、工業の発展と共に増大してきた。

本邦における工業の発展経過は1-1図に示した工業生産指数の推移からも明らかのように発展の一途を辿っており、これに伴って1-2図に示したごとく漁業の被害金額も急激に上昇しているのが認められる。

1-1図 工業生産指数とパルプ生産量の推移（工業生産指数は昭和9～11年平均を100）



1-2図 漁業被害金額の年次別比較（水産庁資料による）

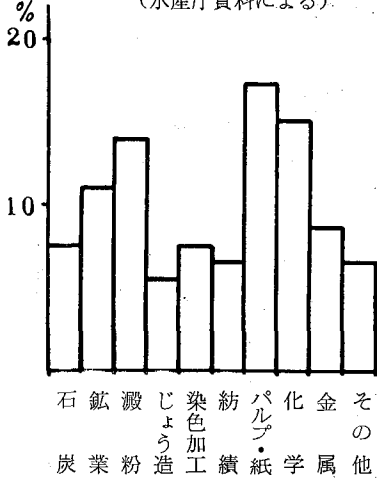


これらの工業の中で水産業に対する企業別の影響は1-3図に見られるようにパルプ、紙の工業が最も大きな比率を占め、しかもその生じた影響を他産業による場合と比較すると1-4図のようであり、漁業に対する被害件数が多いのみでなく、個々の被害の額も他の産業より著しく多いのが認められる。

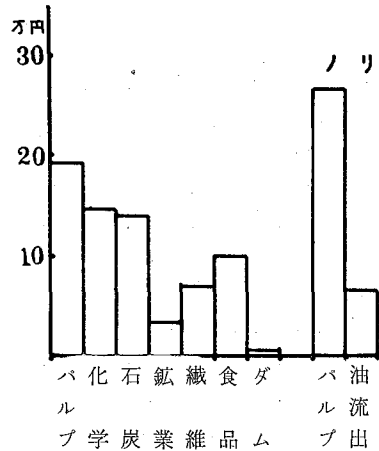
このパルプ工業の発展の推移は、1-1図に示されている本邦における工業生産の上昇と共にパルプ生産も増加しており、また1-5図に示したパルプ用材の生産量の推移からも見られるように近年急激に増大しているのが見られる。このようにパルプ工業は近代工業の中でその廃水が水産業に与える影響は最も大きく、しかも今後ますますそれが増大して行く可能性があるため、著者は特にパルプ工場廃水を対象として、その水産生物に対する影響について研究を行なった。

従来パルプ工場廃水に関する研究はその殆んどが化学的な見地から行なわれており、水産生物に対する影

1-3 昭和三十三年度漁業被害事例  
(水産庁資料による)

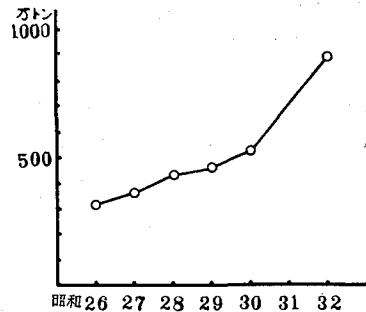


1-4 漁業被害の漁業者1人当りの被害額  
(新田：水質保護論より)



響に関するものは少ない。特に水産生物に対する生理学的影響については研究されていない。廃水の水産業に及ぼす影響を解明するためには、水産業の対象となっている水産生物に対する影響を把握することが特に必要であって、この結果と他の水理学および化学的な研究結果とを総合的に検討しなければならない。このような意味で、本研究では水産生物に対する生理学的影響を通じて漁業被害の原因について論じた。近年、本邦各地において惹起される大小様々な廃水問題に関連した紛争問題に対処するために、水質保全に関する法律の施行その他行政的措置が取られ、紛争の解決ならびに防止のための努力が払われているが、これらの円滑な運営のためには基礎となる科学的資料の整備が最大の要素であるので、今後この要求に応ずる基礎研究が強力に推進されねばならない。

1-5 図 バルブ用材生産量の推移  
(紙バルブ協会資料による)



本研究を行なうに当たって内海区水産研究所長花岡資博士、同所利用部長新田忠雄博士から終始御激励と御指導を頂き、また病理組織学および細胞化学的検討について農林省家畜衛生試験場研究第三部長市川収博士の御指導を頂いた。さらには、九州大学富山哲夫教授ならびに東京水産大学稲葉伝三郎教授には、本論文の御校閲を頂き同時に種々内容について御教示を得た。ここに厚く感謝の意を表す。

内海区水産研究所利用部の方々および同所資源部千国史郎技官には種々御協力を頂き、また現地調査に当っては内海丸乗組員の方々に協力を頂いた。ここに深謝の意を表す。

## 2 研 究 史

### 1) 産業廃水の水産生物に及ぼす影響に関する研究史

産業廃水の水産生物に及ぼす影響に関する研究の歴史は古く、約一世紀も昔から欧米では問題にされていた。しかし、その殆んどは廃水による魚類の斃死を問題としたものであって、最も古いものとしては、Macadam<sup>69)</sup> (1866) のパラフィン油の魚類に及ぼす影響についての報告がある。この研究以来海外では、Grandeau<sup>35)</sup> (1872) などによって各種薬品のコイに対する影響が検討されているが、これらは水産業上の問題としての研究ではなかった。

本格的に水産業上の問題として取上げた研究は、養魚上の問題として Weigelt<sup>136)</sup> (1880) の研究であり、その報告の中ですでに魚の毒物に対する生理作用を検討することの必要性を述べている。

工業薬品以外に実際の産業廃水を用いて行なわれた研究としては、Thienemann<sup>123)</sup> (1911) がトゲウオ、金魚を用いて製紙工場廃水について実験を行なっているのが初めである。次いで、Vogel<sup>131)</sup> (1913) がカリ工業廃水の魚類に対する毒作用について研究している。一方、毒作用の基礎的研究として Powers<sup>92)</sup> (1917) の毒性の表示方法などに関する独創的な研究があり高く評価された。その後各種工業の発展と共に研究も進展して現在におよび、今日組織的な研究が数多く行なわれている。英国における Water Pollution Research Laboratory, 米国における Robert A. Taft Sanitary Engineering Center, カナダの Fisheries Research Board などの研究機関から多くの業績が出されている。

本邦における研究としては高安<sup>120)</sup> (1924) が行なった各種薬品についての魚類の致死量に関する研究が初めであるが、高安は致死量のみでは廃水の問題を解決するのに不十分であるとして嫌忌量という極量を設定して研究を行っており、この種の研究に大きな足跡を残している。その後、岐阜水産会<sup>32)</sup> (1930) は高安の方法を用いて毛織工場および紡績工場の廃水について試験を行ない、このような試みは各地において行なわれた。すなわち、滋賀県水試<sup>101)</sup> (1929~31) の琵琶湖における人絹工場廃水に対する試験、農林省水産局<sup>85)</sup> (1932) の山口県徳山湾での重油・機械油に対する試験、群馬県水試<sup>37)</sup> (1934) の吾妻川上流における大山温泉の影響試験、香川県水試<sup>51)</sup> (1938) の新居浜における化学工場、人絹工場についての試験などが行なわれている。

基礎的な研究としては、吉原他<sup>139)</sup> (1935) の毒物による魚介類の斃死についての検討、松井他<sup>71)</sup> (1940) の各種薬品と致死時間の関係の検討、五十嵐<sup>45)</sup> (1943) の泥土の水族に及ぼす影響の研究、土屋<sup>125)</sup> (1947) のミチンコに対する硫化物の毒性についての研究、富山・山川<sup>128)</sup> (1950) の同じく硫化物によるコイの有害度を新たに考案した装置による研究などがある。

1950年以降においては内海区水産研究所における水産業を対象とした各種研究を始め、多くの研究者によって研究が行なわれるようになった。1956年農林省農林水産技術会議が水質汚濁研究協議会を設置して、組織的な研究を始め現在に及んでいる。

産業廃水の水産生物に及ぼす影響に関する研究を振り返って見ると、当初魚類の斃死を対象とした致死量についての研究が行なわれたことに始まり、順次高安<sup>120)</sup> によって提唱された嫌忌量、新田・藤谷<sup>81)</sup> によって行なわれた不良量、また近年米国において Doudoroff<sup>12)</sup> (1957) によって行なわれた魚類の逃避行動 (Avoidance Reaction) など魚類に対する低濃度の廃水の影響を検討する方向に向っており、産業廃水問題の解決のためには低濃度の廃水の影響を生理・生態的な広い視野から検討を加える必要が生じてきた。

これまでに行なわれた研究は主として水産生物の生態学的見地からの研究であって、生理学的見地からの検討は Weigelt<sup>136)</sup> によって80年前に必要な性を認められながらも現在まで殆んどその報告を見ることできない。

## 2) パルプ廃水の影響に関する研究史

パルプ工場廃水の影響に関する研究は、パルプ工業が発達した近年のことであって、組織的に研究されたのは Galtsoff<sup>31)</sup> (1947) Tully<sup>130)</sup> (1949) などの研究からといってよい。近年米国およびカナダの太平洋岸においてパルプ廃水の影響が問題となり、Waldichuck<sup>134)</sup> (1954) などの一連の研究がある。本邦においては個々の問題については若干の研究の進展があったが、詳細な検討を加えたのは新田<sup>81)</sup> (1953) の研究が初めである。しかし、これらの研究はいずれも主として廃水の水域における分布およびそれに伴う水域の物理的および化学的变化に関するものであって、生物学的な検討は殆んど行なわれていない。また一方、パルプ工場廃水の水産生物に対する毒性の除去方法について、河辺・富山<sup>57-61)</sup> の一連の研究があり、緑藻の成長に対する阻害作用およびヒブナ仔魚に対する致死作用から毒性を評価し、酸添加処理が毒性の除去に有効であることと、毒性物質は廃水中に含まれる樹脂酸およびその関連物質である旨報告したのは、水産的見地からの廃水浄化に関する研究として唯一のものである。

## 第二章 産業廃水の影響の現われ方

### 1 廃水の影響の現われ方の概要

一般に工場から河川もしくは海域に排出された廃水は、河川と海域、あるいは同じ河川および海域においても地形その他の条件の相異によって差異があるが、漸時稀釈あるいは拡散によってその濃度が薄まり、遂には自然水と区別することができないようになる。したがって廃水が放流された水域には廃水に汚染された水域ができ、その水域の状態は廃水の種類、廃水量および水域の水理的条件によって異なる。いずれにしても、廃水の水産生物に及ぼす影響は主としてこの汚染水域内あるいはその付近において生ずるのが通常である。

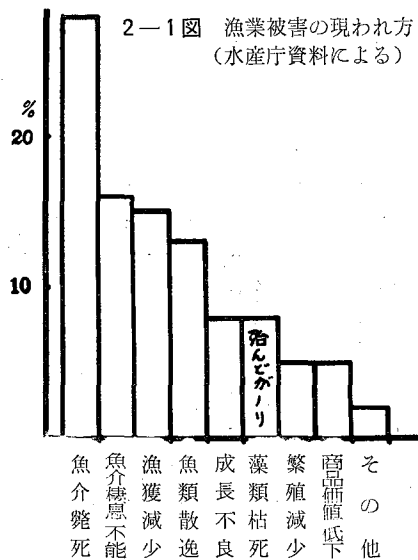
一方、廃水によって生ずる水産業への被害を見ると、統計に現われた被害は2-1図に示されているようなものであり、その現われ方も多種多様に亘っている。これらの中で、どのような影響が最も重大なものであるかは現われた現象のみから判断されるものではなく、影響の現われた水域の立地条件およびその水産業上の重要度によって異なり、特にその対象となる水域の水産生物学的条件によって左右される。すなわち、いかて悪質の、しかも多量の廃水が非出されてもその水域の水産生物の被害がなければ産業上の問題とはならない。したがって、排出された廃水の影響の程度を支配する要素は、廃水の性質その他の廃水側の条件のみでなく、水域の水産生物学的条件も大きく関連している。

#### 1) 水産業から見た水域の意義

近代産業の各種工場は、多量の水を必要とするものが多く、またその他の立地条件も加わって河川に臨み、あるいは臨海地帯に建設されるものが多い。したがって廃水の影響を受け易い水域は河川・河口・浅海などである。本邦における河川の性格は海外諸国と異なって漁業の対象となっている場合が多い。ところが、米国をはじめとして、海外諸国における河川の汚濁問題に対する水産の発言は遊魚、スポーツの対象としての発言が多く、漁業者の深刻な生存権の主張が問題となって浮び上るような日本の場合と大分事情が異なっている。一方浅海域においては、廃水の波及する海域が岸から数哩に及ぶこともまれではない。したがって、その廃水の波及するところが漁場と一致すれば影響が生ずることを考えねばならない。沿岸漁業は魚群を見出してこれを漁獲する施網、魚群の来遊を待つて漁獲する定置網、刺網、延繩、魚群の棲息することを予想して行なう曳網または釣漁業、魚介を見付けて捕獲する突棒・潜水など、魚の棲息していることを期待し、また来遊することを期待しているのが漁業であり、これに対して浅海はこれらの魚類の棲息に適した場所を形成している。また、沿岸の果す役割の一つは養殖あるいは採貝・採藻の場としての役割である。本邦における養殖業は積極的な漁業対策として極めて重視されるもので、養殖の対象としては産業的に有利なノリ・カキ・真珠などがあり、特にノリ・カキは適当な塩分と栄養塩を必要とするところから河口もしくはその附近の沿岸が漁場として選ばれている。

このように、浅海域は多くの漁業が行なわれており、ここに廃水が波及するとこれらの漁業に影響が生ずることになる。しかしながら、河川あるいは海域についても、その立地条件によって水産業上の価値には差異があり、すべてを同一視することはできない。

一般に生物は個体の成育を繰り返しながら、その種属の繁栄を求めてそれぞれの生活に適した生活環境の下に生活しているが、水産生物は陸上生物に比較してその成育の段階に応じて生活環境の求め方が異なる場



合が多い。例えば、あるものは河口付近で産卵し、ふ化した稚魚は浅海地域で成育してから沖合で生活するといったものもあれば、極端な場合にはウナギのように深海で産卵し、ふ化した後の生活は淡水域で行なうようなものである。したがって、そのいずれの段階が影響を受けても、その種類にとっては決定的なものとなり、成魚には何ら関係のないような所でも、それが産卵場であったり、稚魚の成育場であれば遂には成魚の減少となる。このように、水産業から見た水域の意義は極めて複雑なものになっており、河川・浅海の殆んどすべてが重要な水域となっている。

## 2) 生物の生活環境として特に重要な水域

### i) 魚類にとって重要な水域

魚類にとって重要な水域の中で第一にあげられるものは産卵場である。魚類の卵をその性質の上から分類すると、浮性卵・粘性卵・沈性卵に分けられる。これらの中で例外はあるが、大体卵の性質として浮性卵は水中に放卵されると水の表面またはその近くを浮遊しながらふ化し、粘性卵は産卵されると粘液で海藻・岩礁・砂礫などに附着してふ化する。また沈性卵は水底に沈んでふ化するものである。このうちで、浮性卵に属するものは沖合性の魚類に多く認められるが、粘性卵に属するものの大部分は浅海地域の干潟・磯・藻場・河口およびその付近に産卵される。一方沈性卵はサケ・マスがその代表的なものであって、これは河川の河床の砂礫中に産卵される。河川・潮沼に棲息する魚および浅海域に棲息する魚の大部分は、粘性卵および沈性卵を産卵する魚に属するものである。したがって、廃水問題が生じやすい河川・浅海域にはこのような魚類の産卵場として有用な所が多い。

河川および浅海域に産卵された卵はふ化して稚魚となり幼魚となって成魚に移って行くが、これらの水域でふ化した稚魚の大部分は河川ではその付近で、浅海では磯・藻場などで成育する。浅海における水産物の生産の基礎となっている各種の栄養塩は、その殆んどが河川によって陸地から運ばれており、河口附近の一带は餌生物の供給地であり、このような所が数多くある場所は水産業上重要な地域となっている。磯・藻場の重要生は単に餌料の供給の面のみではなく、稚魚の隠れ場としての意味も大きい。昔から投石・桑葦と称して人工的にこのような場所を造設することが行なわれているので、この意味からもこれらの地域の重要性をうかがい知ることができる。

その外、成魚の行動から見て遡河魚における遡河地点、磯魚における魚礁、回遊魚における回遊進路などの地域も重要なものになっている。

### ii) その他の生物にとって重要な水域

魚類以外の水産生物としては貝類・藻類・甲殻類があげられる。貝類・甲殻類の大部分のものはその幼生期には水中を浮遊して、その後は干潟地域で生活するものが多い。しかも、これにはかなり複雑な自然条件が加味されており、どのような場所でもよいとは限らないので、これらの生物にとって重要な水域は、水産業上かけがえのない所である場合が多い。

一方、藻類に関しては天然産の有用藻類の大部分は沿岸の岩礁地帯に着生、成育するものが多い。したがって、この水域は魚類の棲息場であると共に藻類にとっても重要である。浅海域で最も重要な藻類はノリであって、主として河口付近および浅海の干潟で養殖されるので、この地域が影響を受けると水産業上大きな被害になる。しかも、ノリの“種場”になっている所はノリの成育に適した水域の中でも特に限られた場所であり、この水域は特に水産業上重要な所である。

このように、河川・河口・浅海の水域は水産業上それぞれ異なった意味で重要な役割を果たしており、産業廃水の水産業に及ぼす影響は主としてこのような水域において現われているのであるから、廃水の水産業に与える影響は極めて大きいものである。

## 2 パルプ廃水の影響の現われ方

パルプ工場廃水も一般の廃水と同様に、工場から水域で放流された廃水は稀釈混合によって漸くその濃度は薄まり、終には正常の水と識別ができなくなるが、その稀釈の状況は可川域と海域とでかなりの相違がある。河川に放流された廃水はその水量・温度・比重などに支配されて、河川水とは直ちに均一混合を

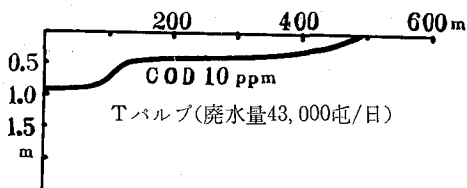
しないで、放流された側を主として流下し順次稀釈されながら流下し、感潮域では上流に向って拡がる場合もある。いずれの場合も廃水の稀釈はその量と河川の水量との比率以上の稀釈率にはならない。したがって、水量の少ない所ではかなり高い濃度のまま流下して行き、その濃度がその河川に棲息する生物に影響を与えるようなものであれば、その廃水が流下した水域全域に亘って影響が見られることになる。河川に見られる水産生物に対する影響は主として魚貝藻類の斃死および枯死、棲息量の減少、繁殖阻害、成長不良、遡河魚の遡上の阻害などであってその例は多い。

一方、海域に放流された廃水の稀釈状況は、海域の地形・海流その他の自然条件によって大きく左右され一定していないが、海水中に放流された廃水は海水との比重差によって海の表面を拡がりながら分散して行く。新田によれば<sup>83)</sup>2-2図に示すごとく廃水量が1日43,000立方メートルのバルブ工場廃水の垂直分布は1メートルの深さ以下には分布していないといわれ、また杉本<sup>114)</sup>によれば、1日の廃水量が80,000立方メートルの廃水の垂直分布は1.75メートル以深には及ばないといわれている。したがって、廃水は極めて薄い水層として海面に分布しているものと認めることができる。

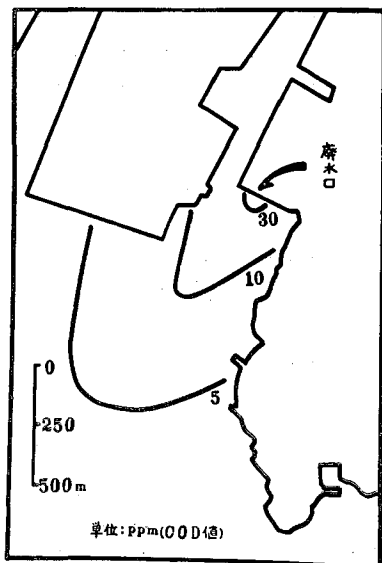
海域における廃水の水平分布は、廃水の水量に応じてその分布面積に変動が見られ、新田は廃水量とその分布面積の間にほぼ一定の関係があることを認めている。廃水口から海中に放流された廃水の濃度は、廃水口近くでは比較的高い濃度を示すが漸次稀釈されながら拡がり、分布面積の大部分は極めて低濃度の廃水が分布しているに過ぎない。広島県呉市広湾におけるバルブ工場廃水の分布状況を13回に亘り調査した平均値から求めた結果を2-3図に示す。これによると、廃水口近くに比較的高濃度の廃水が見られるが、大部分の分布水域は極めて低濃度の廃水が波及しているのが見られる。また、杉本<sup>114)</sup>が山口県岩国市近辺のバルブ工場廃水の調査から得た結果から求めた廃水の分布状況を2-4図に示す。この結果からも分布面積の大部分は、低濃度の廃水によって占められている。

また、農林水産技術会議が取纏めた資料<sup>86)</sup>の中の廃水分散域内表面海水の稀釈率に関する資料を2-5図に示す。これによると、多くのバルブ廃水の海域での稀釈は廃水口から流出して300メートルを経ると原廃水の $\frac{1}{10}$ ~ $\frac{1}{20}$ に稀釈されている。

2-2図 バルブ廃水の垂直分布の一例(新田による)

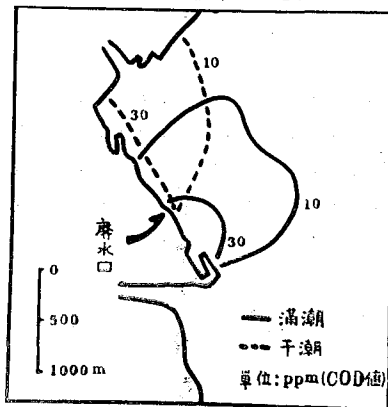


2-3図 バルブ廃水水平分布(A)



また、この廃水の分布面積は潮の干満によっても変化し、満潮時にはその面積が縮小し、干潮時には拡大されるが、杉本<sup>115)</sup>は大竹市近辺のバルブ工場廃水についての調査から、廃水の分布面積は潮の干満によって変化するが

2-4図 バルブ廃水水平分布(B)  
(杉本による)





高い濃度の水域はその面積が殆んど変化せず、自然条件その他によって生ずる分布面積の変化は主として低い濃度の廃水が分布する水域の変化によることを報告している。したがって、海中に放流された廃水は海面に拡がり、海流、潮汐、その他の気象条件などによって海上を移動しているが、この部分は殆んど低濃度の廃水であると認められる。

このような廃水の影響として水産業上現われる現象は、魚類の棲

息不能、死滅、斃死、散逸および回避の忌避、繁殖の阻害などが主として認められ、その他貝および藻類の死滅、繁殖阻害、成長不良などが認められている。この外、廃水の分布する水域においては生物に対する影響として、底棲生物および沿岸附着生物の生物相の変化および種類数の減少、死滅、ある種のプランクトンの減少などが報告されている。<sup>81)</sup>

### 3 廃水の水産生物に対する影響の現われ方と生理学的研究の意義

水産生物に対する廃水の影響を考える場合、その影響が生物の生理作用の異常として現われる場合と、生物の生態的な面での異常として現われる場合とを考慮することができる。

生物の生理作用に現われる影響としては、廃水の種類あるいはその濃度に応じて生物の生理作用に及ぼす廃水の影響には相異がある。最も影響の大きく現われる場合が生理作用の停止、すなわち斃死である。

一般に自然環境に棲む魚介類に斃死の現象が現われる場合その原因となるものは急性毒による場合と、酸素欠乏による場合とが殆んどであるといわれている。<sup>10),33)</sup>

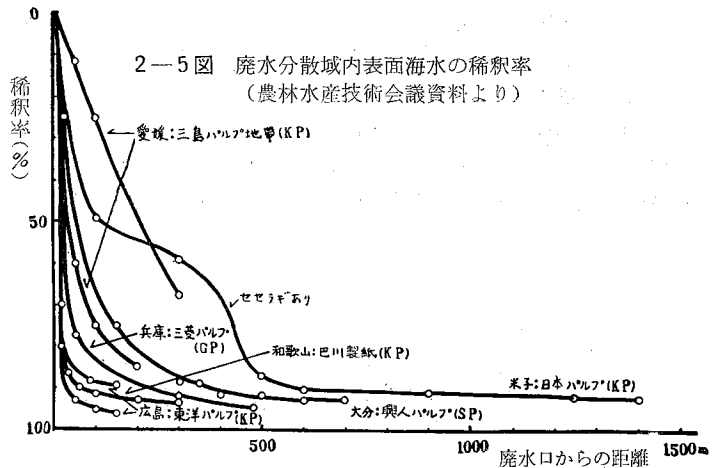
しかしながら、この斃死現象の本質については全く明らかではなく、シアン化物による斃死のような極端な例を除いては明らかにされていない。

生理作用が停止するまでには至らないが、生理機能の低下もしくは異常が廃水によって生ずる場合が考えられる。すなわち、廃水に起因する疾病の発現であって、このような場合には魚介類の成長の停止、あるいは減退をきたすし、またこれが昂ずれば斃死の原因となる。これらは水産業上魚介類の成長不良、繁殖の減少となり、最終的には漁獲の減少となって現われるものと考えられるが、このような廃水による魚介類の生理作用への影響に関しても殆んど明らかにされていない。

生理作用の停止、異常に次いで生理作用に病的な影響が生ずるまでには至らないが、正常ではない状態が生じていることが考えられる。魚介類に見られる現象としては、魚類における鰓および体表の粘液分泌の増加、呼吸回数が増減、貝類では鰓纖毛の異常運動および粘液分泌の増加などが認められている。これらはすべて生物の毒物に対する自己防御の作用と考えられるもので、この限界がくずれると病的現象が生ずるものと推察される。すなわち、毒物に対する生物の耐性が働いている段階であると考えられることができる。

このように生物の生理作用に対する廃水の影響は一元的なものではなく、一連の関係をもった幾つかの段階があるので、廃水の影響を評価するに当たって重要な要素と考えられるが、この点に関する研究は殆んど行われていない。

一方、現実に生じている水産生物に対する被害の中で生理作用に対する影響の結果生じたと思われる現象は極めて多い。すなわち、魚介類の斃死、繁殖不良、成長不良、藻類の枯死、成長不良などは直接生理作用と関連する現象であり、また魚介類の棲息量の減少あるいは棲息不能、魚類の散逸、回避忌避などにも若干の関連があるものと推定される。



また、生態的な面で見られる廃水の水産生物に対する影響の中で、最も重要なものは魚類の散逸であって、この現象に対しては高安<sup>120)</sup>、富山・井上の嫌忌量<sup>129)</sup>、新田・藤谷の不好量<sup>81)</sup>、Doudoroff<sup>12)</sup>の魚の回避行動に対する影響などの研究があり、廃水の影響を評価する上での重要な資料となっている。

生物の生活現象の中で、その生理作用と生態反応との間には密接な関係があり、分離して考えることはできない。廃水の水産生物に対する影響の生態的な面での評価はかなりなされている現在、生理作用に対する影響の評価なしに廃水の水産生物に対する問題を評価することは不可能であり、ここに生理学的研究の必要性がある。

### 第三章 魚類に対する影響の評価

#### 1 魚類の循環器系に対する影響を評価するための血液学的および血清学的研究

##### 緒 言

魚類の血管系は心臓および動脈、静脈とそれらの毛細管から成立っている。その主な作用は呼吸作用の一環として酸素の搬入、運搬、炭酸ガスの排出および体内各部への栄養補給などであり、これらの点は陸棲高等動物と特に異なる所はない。しかし、魚類の特徴としてあげられるものは血管系が鰓に連なり、この鰓が外環境に直接触れていることである。この点で毒生物質、特に可溶性物質の魚類に対する影響を評価するに当っては、その体内における運搬機能の面において循環器系の果す役割は大きいと想像され、その際血液の組成およびその機能に何らかの異常が期待される。したがって、廃水の魚類に及ぼす影響を検討するに当っては、血液学的検討は不可欠の要素であろう。

##### 研究方法

###### 1) 血液学的性状に関する研究方法

血液学的性状については、一般的な血液検査の方法に準じて行ない、その項目と方法は下記のようなものである。

###### a) ヘモグロビン量の測定

Sahli-Haemometer によって測定した。その原理は被検血液に塩酸を加えて塩酸ヘマチンを作り、標準色と同一濃度になるまで水を加えて稀釈し、その稀釈度を用いてヘモグロビン量を表わすものである。

本研究においては常法にしたがい採用メランジュール (0.02cc) に取った血液を適量の稀塩酸 (10%) に混合後、反応を完全に行なわせるために60°Cの温湯に10分間浸漬後ヘモグロビンの測定を行なった。

###### b) 赤血球抵抗の測定

滲透抵抗力について測定を行なった。

赤血球は低滲透圧液中に入れると、水分が赤血球中に侵入して血球は膨脹し、液の滲透圧が甚だしく低い時には破れてヘモグロビンを逸出するが、この時の食塩水の濃度を用いて赤血球抵抗力を表現する。測定は医家の用いる常法に準じて行なったが、食塩水は0.2~0.7%のものを用い、その間隔は0.5%に取り、その中に注射針から一滴ずつ血液を滴下して、氷室内において6時間放置後遠心沈澱させ、その溶血度を光電比色計によって測定すると同時に、沈澱の状態を肉眼で観察した。

###### c) 血液比重の測定

硫酸銅法によって測定を行なった。すなわち、飽和硫酸銅溶液を稀釈して比重1.100の原液を作り、これから一定に稀釈して比重1.012~1.072まで、0.004の間隔を持った基準溶液を作る。血液の1滴を1cmの高さからこの基準液中に落し、15秒以内で血液が中間に浮かぶ基準溶液の比重を血液の比重とする。

###### d) 赤血球数の測定

Gower 氏法を用いて測定を行なった。正常魚の血液を採り血球計算板を用いて1cm<sup>2</sup>中の赤血球数を正確に求め、一方同一血液をヘモグロビン測定用メランジュールで0.02cc採り、これを Gower 氏試薬 8 ccの入っている試験管中に吹きこんでよくメランジュールの内壁を洗い、転倒混和後直ちに試薬をブランクとして光電比色計を用いて透過率を求め、その値から前記血球計算板法により求めた血球数への換算係数を算出し、任意の供試血液中の血球数を単に透過率の測定値から算出した。

Gower 氏指薬	
無水硫酸ソーダ	12.5g
氷 醋 酸	33.3cc
水を加えて200ccとする	

これらの方法を用いて血液学的性状に対する廃水の影響を検討したが、実験はすべて屋内水槽における飼育実験によった。

供試魚は淡水魚としてはコイ(平均体長20cm)を、また海産魚としてはクロダイ(平均体長25cm)を用い、

飼育中は通気を十分に行ない酸素欠乏による影響が全くないように注意した。

## 2) 血清学的性状に関する研究方法

血清学的性状については濾紙電気泳動法を用いて血清蛋白の分離を行ない、血清蛋白組織の変化を用いて比較検討を行なった。近年、医学はこの方法を用いて臨床的診断の面で大きな成果をあげており、この方法の応用は生体の生理作用の異常の把握に大きな役割を果すといわれている。<sup>78)</sup>

### a) 濾紙電気泳動像を求める方法

装置は直流電圧を与える電源部分と泳動を一定の条件の下で行なわせるための泳動槽とからなり、電源は安定な直流を得ることができるものであれば差支えないので、0~500Vの電圧の得られるものを自作して使用した。再現性のある泳動像をえるためには、泳動中の外囲の条件をできるだけ一定に保つ必要があり、温度、湿度などに急激な変化を与えることは好ましくない。したがって、泳動槽に密閉された箱を使用し、その底に少量の水を入れた中で泳動を行なった。本研究においては医家用市販品の一部を改造して使用した。

一方、使用される電解液は物質の分離の良否を左右する。一般に血清蛋白の分離には Veronal および Veronal-Na を用いた緩衝液が用いられる。

本研究においては下記のような電解液を用いて泳動を行なった。

Veronal-Na.....10.3g

Veronal.....1.84g

蒸留水で1ℓとする (pH:8.6,  $\mu$ :0.05)

泳動を行なわせた血清蛋白は無色透明であり、そのままでは検知することができないので、この検出に呈色液が使用される。本研究では下記のB. P. B呈色液を使用した。

ブロムフェノールブルー...0.05g

昇 汞.....1.0g

氷醋酸.....2.0g

水で100ccとする。

この液で呈色させた濾紙上には黄色の斑点が生ずる。呈色させた濾紙を2%醋酸液で洗浄した後、乾燥させ、検知をより容易にするためにアンモニア蒸気に曝して斑点の色調を青変させたものを溶融パラフィン中に浸漬して濾紙の透明化を図る。これをデンストメーターを用いて泳動距離および分層の濃度を決定した。使用する濾紙はその種類によって泳動結果を左右しないといわれるが、本研究ではすべて東洋濾紙製の No. 51を使用した。

### b) 試料の調製方法

供試魚の尾部を切断して、ここから流出する血液を時計皿に集め、乾燥しないように留意しながら放置すると血液は凝固して血餅と血清に分離する。この血清を小試験管にとり、遠心沈澱してなお少量残っている血球を分離した後供試した。濾紙に附着させる試料の量は泳動結果を左右するといわれるので、予備実験の結果0.02ccを採血用ピペットを用いて採取し附着させた。

### c) 泳動電流および泳動時間

一般に高電流を与えると単位時間の泳動距離は長く、低電流ではこの逆となる。したがって、高電流を与えた方が能率はよいが濾紙の発熱などの影響によって泳動像が不鮮明になることがある。このような理由から電流は常に一定に保ち、その電流値も適当に選ぶ必要がある。本研究においては、予備実験の結果比較的泳動速度が速く、かつ泳動像の鮮明さが失なわれないためには4cmの濾紙巾に対して2mAが適当であることが分かったので0.5mA/cmの電流で5時間泳動を行なうことにした。

### d) 泳動結果の比較方法

泳動を行なった後、a)に記載した方法で呈色させ、パラフィンで半透明状態にした濾紙をデンストメーターを用いて泳動曲線を作り比較検討した。

### e) 廃水の影響を評価するための研究方法

研究は実験室内で種々の条件を与えて、この方法の適否を検討する基礎研究を行なった後実際にバルブ工

場廃水の波及する水域に活簀を用いて供試魚を飼育し廃水の影響を検討した。

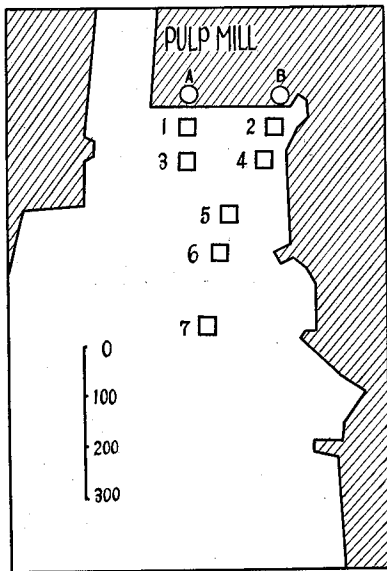
基礎研究は数種の魚類の正常な状態における血清蛋白分層の検討を行ない、数種の薬品およびバルブ廃水を用いてその影響を検討した。

実地研究は2回に亘りクラフトバルブ工場廃水の波及する海面で実施した。

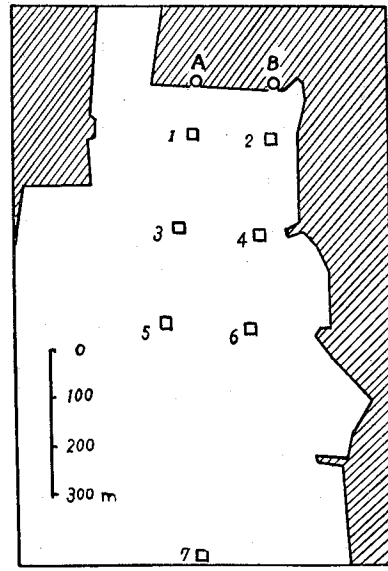
第一回実験の活簀の設置地点は3-1図に示すようなものである。

廃水口の二カ所のうち、湾奥部のもの(B)が主廃水口であり、外側のもの(A)に比較して廃水濃度は高くこの海域に与える影響は主としてB廃水口によるものである。使用した活簀は縦横1m、高さ0.5mの木製のものを用い、供試魚にはマダイ(平均体長25cm)を用いた。

3-1図  
第一回実験における「いけす」位置



3-2図  
第二回実験における「いけす」位置



第二回の実験はクロダイ(平均体長20cm)を用いて第一回の実験と同様の活簀を用いて行なった。

この実験の活簀設置位置は3-2図に示すようなものであり、これは第一回の実験の活簀位置が経時的に廃水口に接近しすぎて供試魚の斃死が多いところから第二回の実験では距離を離した。

各実験共、飼育は12時間行ない、干満両潮時に遭遇するようにした。

### 研究結果

#### 1) 血液学的性状に関する結果

正常なコイ・クロダイの血液性状：生物の異常な状態を把握するためには、その正常な状態を正確に把握しておかねばならない。正常な状態のコイおよびクロダイの血液性状を知るために、コイについては良好に管理が行なわれている養魚池のものを30尾用い、またクロダイについては漁業者が定置網によって漁獲したものを4日間蓄養して、その生き残ったもの20尾を選んで測定を行ない、次の式にしたがって各項目についての信頼限界を算定した。すなわち、各測定値を  $x_1, x_2, x_3, \dots, x_N$  とすると、

$$\bar{x} \pm u \{(N+1)F/N\}^{\frac{1}{2}}$$

但し  $\bar{x} = (x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_N) / N$

$$u^2 = \{(x_1^2 + x_2^2 + x_3^2 + \dots + x_N^2) - (x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_N)^2 / N\} / (N-1)$$

$$F : n_1 = 1, n_2 = N-1, \alpha = 0.05 \text{の} F \text{値}$$

で示される範囲に入るものを正常値として取扱った。

この方法によって得られた、血液性状の正常値を3-1表に示す。コイとクロダイについて各項目の正常値を比較すると、ヘモグロビン量、赤血球数、血液比重についてはいずれもコイが高く、赤血球抵抗はクロダイが若干高いのが見られるが大きな差異はない。

これらの数値から正常魚の数値を100とした場合の正常と認められる限界を同じく3-1表の各項目下欄に示した。

3-1表 正常なコイ・クロダイの血液組成

	コイ	クロダイ
ヘモグロビン (g/%)	8.4±1.3 100±16	8.0±0.9 100±11
赤血球数	246万±44 100±18	200万±32 100±16
血液比重	1.042±0.007 100±16	1.036±0.005 100±14
赤血球抵抗	0.35±0.05	0.40±0.05

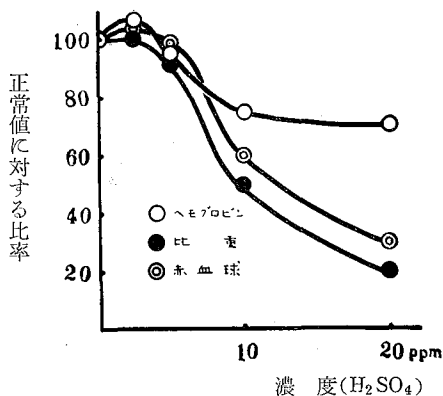
これらの正常と認められる限界から逸脱する値を示したものを影響を与えられたものとして取扱った。

各種薬品による影響：廃水の影響を検討するための予備実験として数種の薬品による影響を検討した。

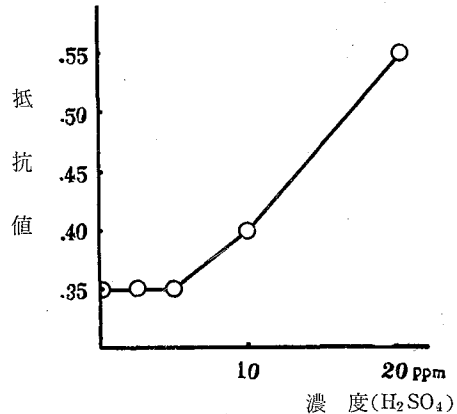
コイに対しては酸 ( $H_2SO_4$ )、アルカリ (NaOH) および銅イオン ( $CuSO_4$ ) を用い、クロダイに対して海水の特性を考慮して銅についてのみ検討を行なった。これらの外、海産魚は一般に酸素の欠乏に対して弱いで空中に露出させて窒息状態の変化を検討した。

コイを24時間各種薬品液に飼育した場合の影響および酸・アルカリを用いた場合の水のpHの変化を3-3図~3-9図に示す。

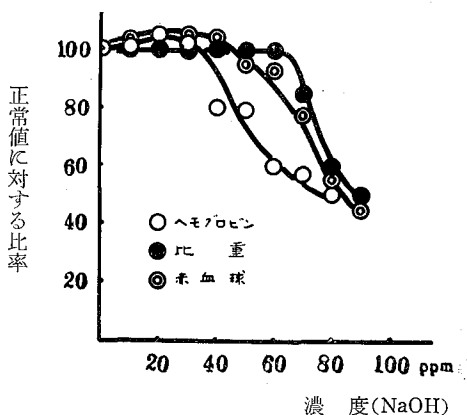
3-3図 酸によるコイ血液の変化



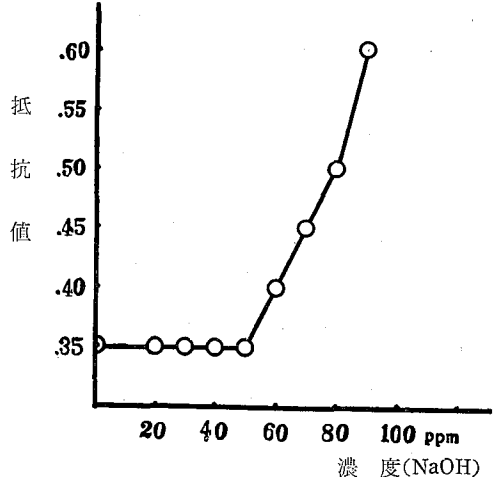
3-4図 酸によるコイ赤血球抵抗の変化



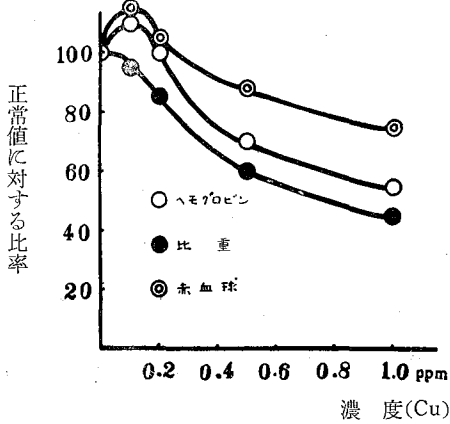
3-5図 アルカリによるコイ血液の変化



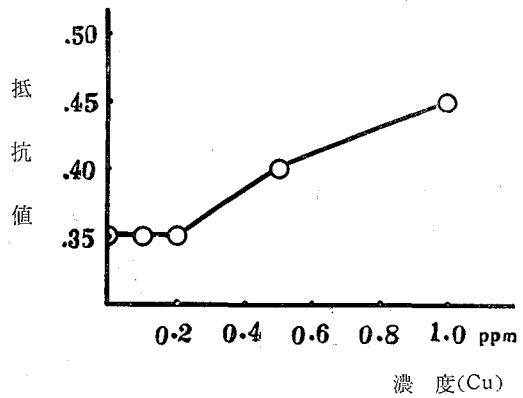
3-6図 アルカリによるコイ赤血球抵抗の変化



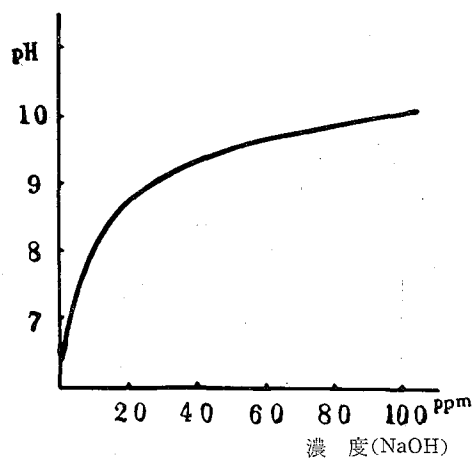
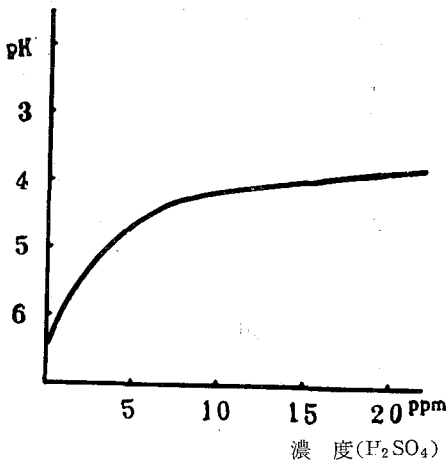
3-7 図 銅によるコイ血液の変化



3-8 図 銅によるコイ赤血球抵抗の変化



3-9 図 酸およびアルカリの溶存量と pH の関係 (淡水)



これらの結果を通じて、ヘモグロビン量、赤血球数および血液比重の諸性状は、正常と認められる範囲内ではあるが、いずれも低濃度において若干の増加を示し、その後濃度の増加と共に減少しているが、赤血球抵抗値はある濃度を境として急激に変化しているのが特徴的である。また、赤血球数の増加はヘモグロビン量、比重の増加に較べて著るしい。

ここで、これらの結果から薬品の血液性状に及ぼす影響濃度を推定すると3-2表のようになる。各項目

3-2 表 薬品のコイの血液組成に対する影響濃度

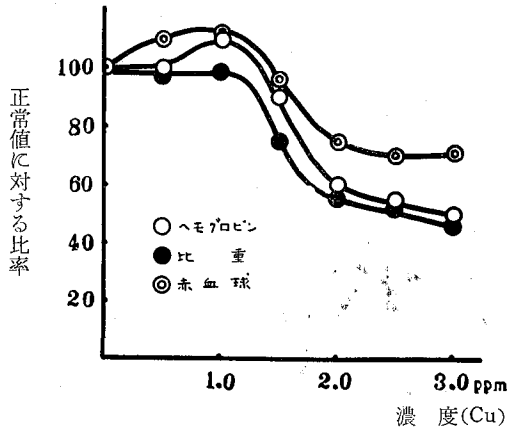
	ヘモグロビン ppm	赤血球数 ppm	血液比重 ppm	赤血球抵抗 ppm
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	7.0 pH: 4.4—4.8	7.0 pH: 4.4—4.8	6.0 pH: 4.6—5.0	5.0 pH: 5.0—5.4
NaOH	40 pH: 9.0—9.4	60 pH: 9.6—10.0	70 pH: 9.6—10.0	50 pH: 9.4—9.8
CuSO <sub>4</sub>	0.2	0.1	0.2	0.2

によって多少の差異が認められるが、いずれもこの影響濃度を境として急激に性状に変化が見られる。

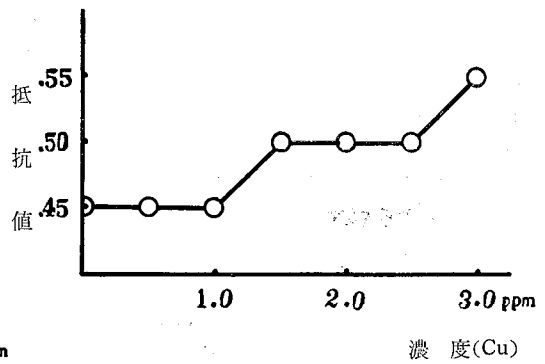
一方、クロダイについては、海産魚は長時間の飼育が困難であるので飼育時間を12時間とし、十分な通気をしながら飼育した。その結果を3-10図および3-11図に示す。

ここで、銅のクロダイに対する影響はコイの場合と比較してかなり高濃度に達

3-10図 銅によるクロダイ血液の変化



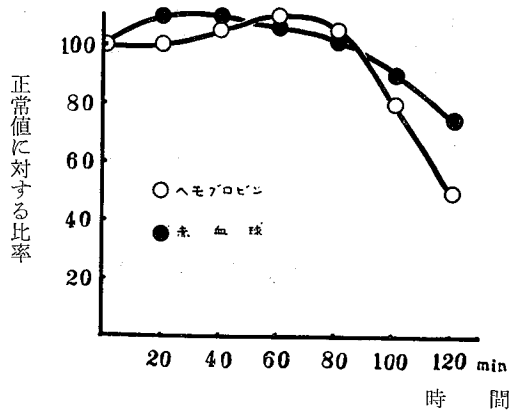
3-11図 銅によるクロダイ赤血球抵抗の変化



しても大きな変化は現われていないが、低濃度においてヘモグロビン量および赤血球数の増加が見られ、また赤血球抵抗の変化の形が異なっているのが著しい特徴である。

クロダイを空中露出させた場合のヘモグロビン量および赤血球数の変化は3-12図に示すようなものであり、露出後80分を経過すると両者共正常とは認められなくなる。その変化の過程は、第一に赤血球が増加し、次いでヘモグロビンの増加が見られ、以後両者共減少している。これは窒息の場合の血液性状変化の特徴と考えて差支えないように思われる。

3-12図 空中露出によるクロダイ血液の変化



したがって、この現象は窒息状態における血液の変化と考えられるから前述したコイの各種薬品による影響およびクロダイの銅による影響として現われているヘモグロビン量の増加などの症状は、いずれも呼吸困難の状態に近い条件が与えられているものと想像される。一方、クロダイの赤血球抵抗の銅による変化は、銅の海水中での動きは複雑であり、一部は溶存し、一部は沈澱として存在するといわれており、第一段の変化に溶存する銅による変化であり、第二段の変化は懸濁状態にあるものによる変化であろう。

このように、魚類に対する毒性物質によって魚類の血液学的性状に変化が見られたことは、血液学的性状を検討することによって有害物質を含む

廃水の魚類に対する生理学的影響を把握することが可能であることを示すものといえよう。

バルブ工場廃水による影響：バルブ廃水の影響を検討するためにコイおよびクロダイを用いて、すべて屋内飼育実験によって行なった。コイについては24時間、クロダイでは12時間の飼育によって血液性状の変化を検討した外、ヘモグロビン量についてはその時間的変化をも検討した。廃水はクラフトバルブ (KP) およびサルファイトバルブ (SP) 工場のものである。

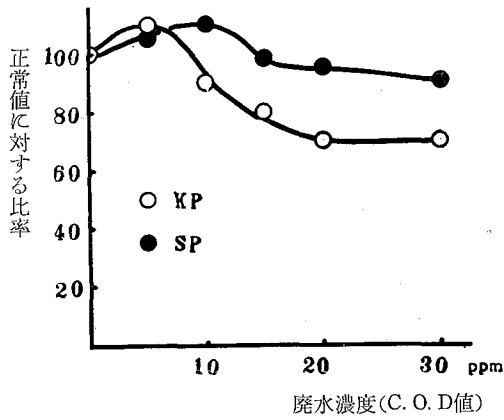
バルブ工場廃水の影響を3-13図～3-26図に示す。

ここで認められることは、クラフトバルブ廃水ではコイ、クロダイの両者共低濃度においてヘモグロビン量、赤血球数の増加が見られ、特にクロダイにおいてそれが著しい。しかし、サルファイトバルブ廃水ではクラフトバルブ廃水に見られるほど顕著ではない。

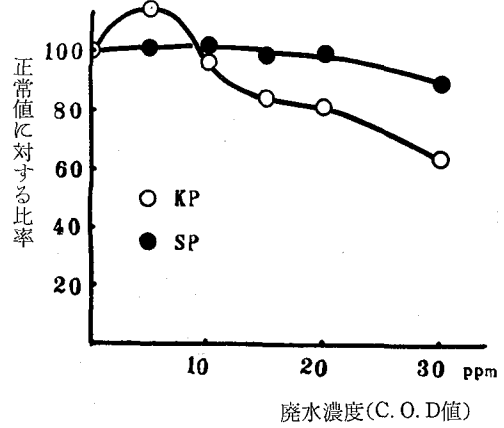
また、クラフトバルブ廃水によっては、コイ、クロダイ共にC. O. D. 値で10～20ppmの低い濃度で影響



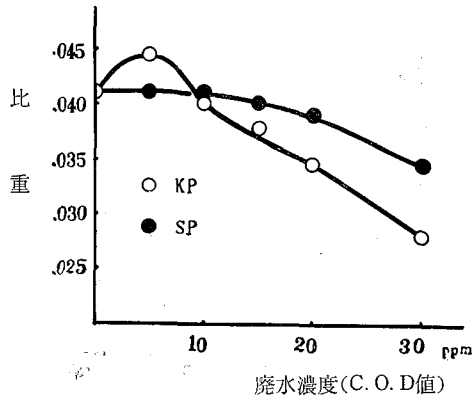
3-13図 バルブ廃水によるコイのヘモグロビン量の変化



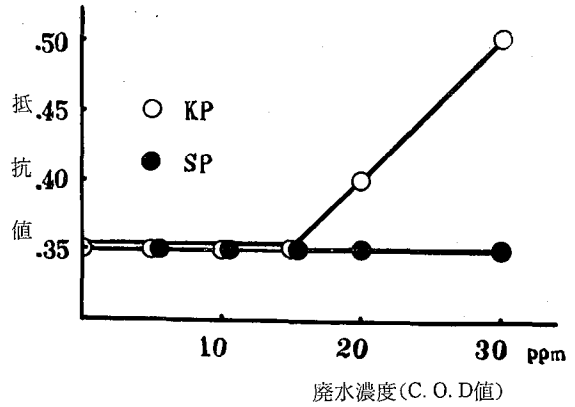
3-14図 バルブ廃水によるコイの赤血球数の変化



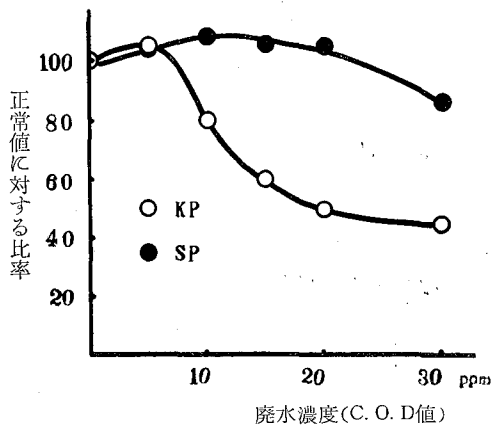
3-15図 バルブ廃水によるコイの血液比重の変化



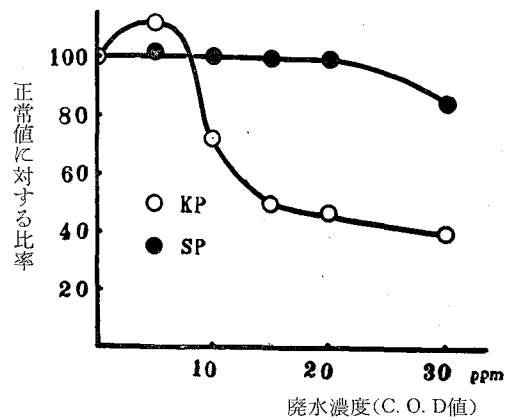
3-16図 バルブ廃水によるコイの赤血球抵抗の変化



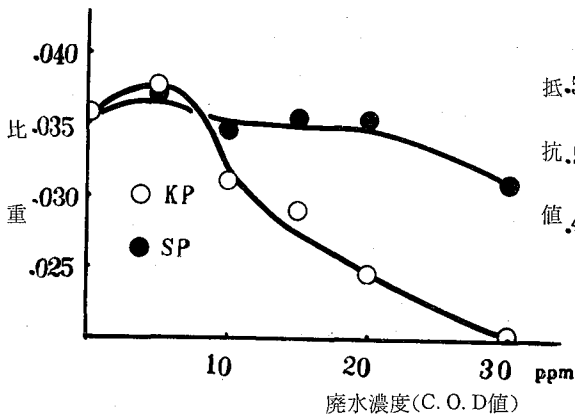
3-17図 バルブ廃水によるクロダイのヘモグロビン量の変化



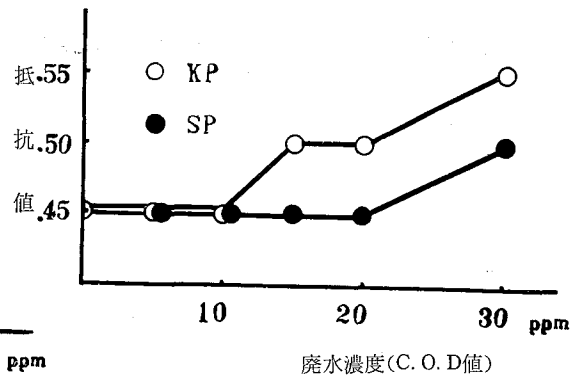
3-18図 バルブ廃水によるクロダイの赤血球数の変化



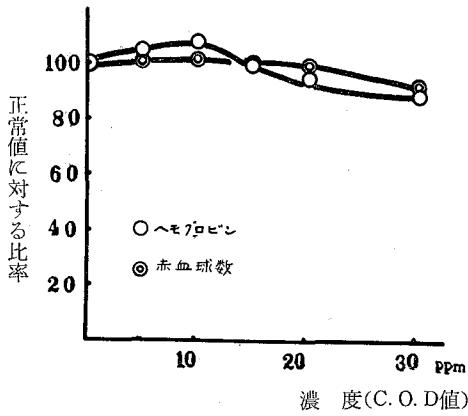
3-19図 バルブ廃水によるクロダいの血液比重の変化



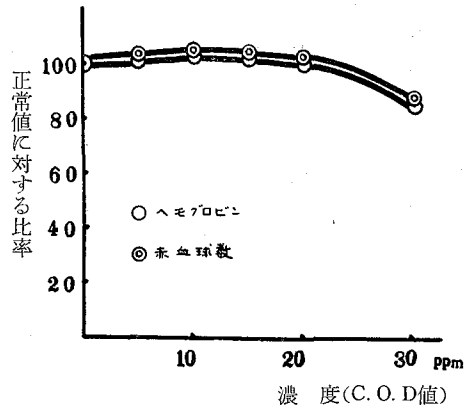
3-20図 バルブ廃水によるクロダいの赤血球抵抗の変化



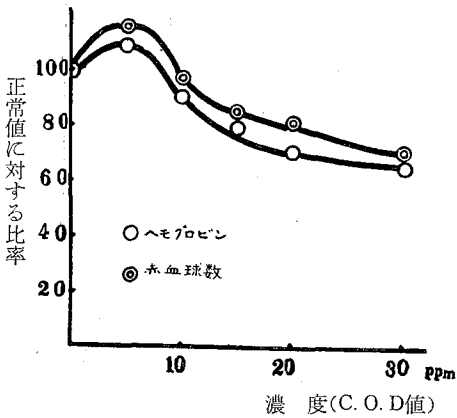
3-21図 SP廃水のコイの血液に対する影響



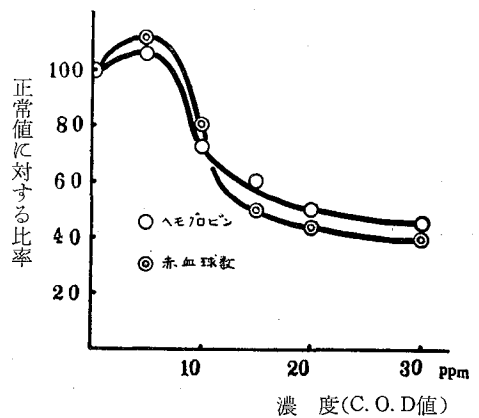
3-22図 SP廃水のクロダいの血液に対する影響



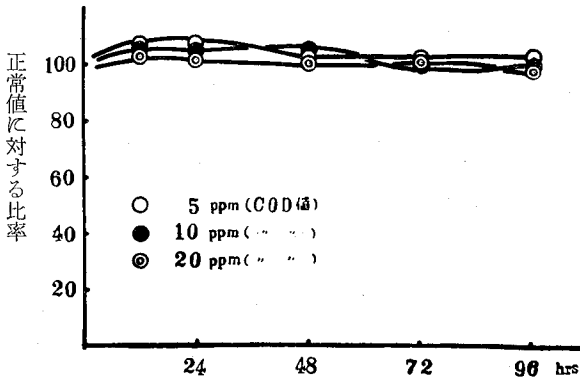
3-23図 KP廃水のコイの血液に対する影響



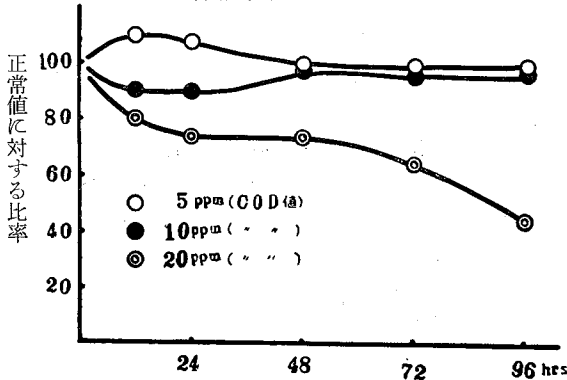
3-24図 KP廃水のクロダいの血液に対する影響



3-25図 S P 廃水によるコイのヘモグロビン量の時間的变化



3-26図 K P 廃水によるコイのヘモグロビン量の時間的变化



3-4表 各種魚類血清蛋白の相対易動度と分層濃度比較

魚種	I	II	III	IV	V	AL/GL
マダイ	125 20.3	87 42.4	43 20.4	15 16.9		.255
メバル	110 33.0	85 30.0	47 12.0	14 25.0		.493
クロダイ	113 12.1	70 44.4	33 16.2	12 27.4		.136
マハゼ	98 33.6	72 21.6	42 32.0	8 12.8		.501
コチ	98 16.2	55 35.4	30 25.3	9 23.1		.193
マブナゴ	110 27.6	76 37.1	45 23.2	16 12.1		.381
トラフグ	103 6.6	71 46.2	36 28.3	11 18.9		.070
ガンギエイ		85 37.1	56 25.8	25 31.5	8 5.6	
ホシザメ		83 45.9	42 27.6	18 16.3	12 10.2	
コイ	94 37.7	69 15.2	44 35.5	12 11.8		.605
人血	AL 100	GL- $\alpha$ 78	$-\beta$ 56	$-\gamma$ 23		

各列上欄：相対易動度 下欄：分層濃度

が現われているが、サルファイトパルプ廃水では30ppmに達しないと影響が見られず、これらの魚類に対する影響濃度はクラフトパルプ廃水に比較して1.5~3倍であった。これは、パルプ製造方法の相異による廃水中の毒性物質の量の相異によるものと推察されるが、血液性状に対する影響の現われ方に大きな相異はないようである。しかし、赤血球抵抗の変化の現われ方には若干の相異が見られ、影響を与える過程の相異を想像させる。ここで、パルプ廃水の血液学的性状に対する影響濃度を推定すると3-3表のようになる。

3-3表 パルプ廃水の血液組成に対する影響濃度

クロダイ	ヘモグロビン	赤血球数	血液比重	赤血球抵抗
K P 廃水	10 ppm	10 ppm	11 ppm	10 ppm
S P 廃水	30	30	20	20

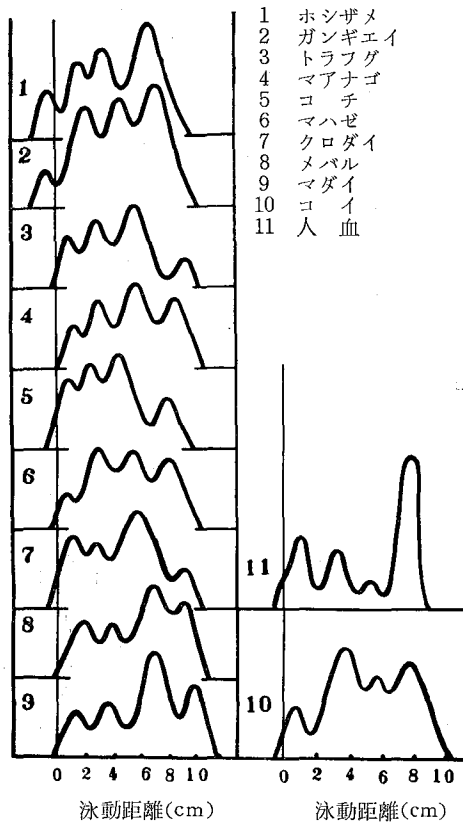
コイ	ヘモグロビン	赤血球数	血液比重	赤血球抵抗
K P 廃水	12 ppm	15 ppm	19 ppm	15 ppm
S P 廃水	30	30	30	30

2) 血清学的性状に関する結果

沪紙電気泳動法による血清蛋白の分離法から見た血清の特性に関しては、沪紙泳動法に一定の規準がないので採用した方法および泳動条件によって異った特性が報告されている。一般に、チゼリウス法と対比させる目的から、チゼリウス法に近い結果を得るための努力が払われているが、この方法でチゼリウス法と同一の結果を得ることは、現在まだ難点があるようである。したがって、それぞれ採用した条件に応じてその特性を検討して見なければならぬ。

本研究において採用した方法にもとづいて、10種の魚類について求めた泳動曲線および血清の特性を3-27図および3-4表に示す。

3-27図 各種魚類の血清蛋白泳動曲線の比較



本研究において採用した方法によると、魚類の血清はそれぞれ4個の分層に分離されており、硬骨魚類と板鰓魚類の間には若干の差異が認められる。

3-4表において、魚類の血清蛋白の相対易動度および各分層の濃度の比率を示したが、相対易動度について板鰓類には硬骨魚類に見られる分層Iに相等する分層がなく、一方便骨魚には見られない陰極側に泳動する分層Vが存在する点が著しい差異である。

魚類血清の分層を人血のそれと易動度について比較すると、魚類血清分層のI, II, IIIおよびIVは人血の場合のアルブミン、グロブリン- $\alpha$ , - $\beta$ , - $\gamma$ と多少の差異が見られるが、大体において同様であり対比させて差支えないものと認められる。そこで、血清の特性の検討にしばしば用いられるアルブミンとグロブリンの比率を表現するために、Iの分層と他の部分との泳動曲線上の分層の面積の比率によって検討を行ない、AL/GLとして表現することとした。

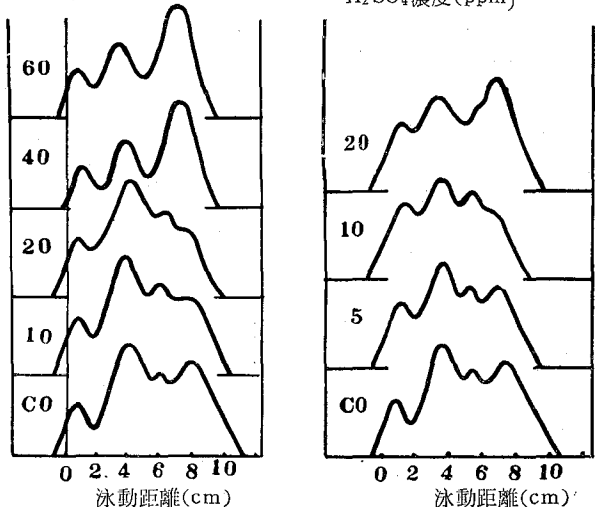
コイを酸 ( $H_2SO_4$ )、アルカリ (NaOH)、銅 ( $CuSO_4$ ) および鉛 ( $C_4H_6O_4Pb \cdot 3H_2O$ ) を混じた水中で飼育した場合の血清蛋白泳動曲線の変化を3-28図および3-29図に示す。これは、いずれも平均体長25cmのコイを用いて、酸・アルカリ・銅については24時間飼育したものであるが、銅を混じた水中での実験において2.0ppm/Cuの濃度に飼育したものは実験開始後4時間で斃死したものである。また鉛の場合は1ppm/Pb

の水中に40日間飼育したものである。

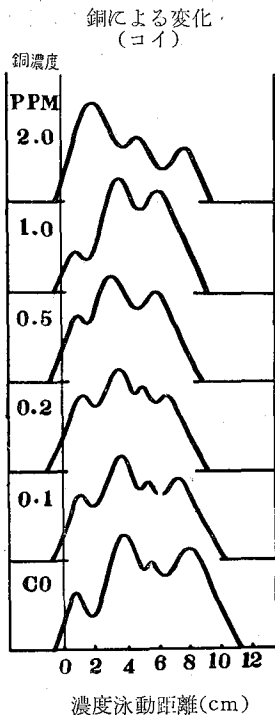
これらの薬品はいずれも魚類に対して毒性を示すものであり、それぞれの薬品を混じた水中で飼育したものの血清蛋白泳動像には変化が見られ、しかも濃度の増加と共にその変化も著しくなっている。

これらの変化の大部分は分層Iの減少であり、アルブミンの減少と見ることができ、銅の2.0ppm水中に飼育して4時間後に斃死したものは分層IIIおよびIVが合併した形になっているのが著しい差異である。ここで見られる分層IIIおよびIVの合併がIIIの増加によって生じたものであるか、IVの減少によって生じたものであるかを検討するために、血清蛋白の各分層比率を求めた結果を3-5表に示す。これによると、水中の銅が増加するにしたがって、グロブリン- $\beta$ が増加しているのが見られるが、- $\gamma$ は減少しているのが明らかに認められる。

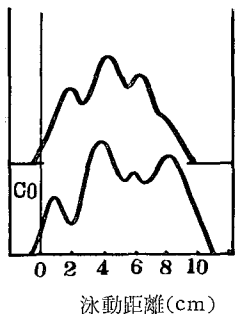
3-28図 酸およびアルカリによる血清蛋白泳動曲線の変化  
NaOH濃度 (ppm) (コイ)  $H_2SO_4$ 濃度 (ppm)



3-29図



鉛による変化 (コイ)



コイおよびクロダイを飼育した結果を3-30図および3-7表に示す。

これによると、廃水濃度が増加するにしたがって、血清蛋白性状に変化が見られ、その変化の状態は分層Iの減少であってアルブミンの減少である。

コイについては、廃水濃度がC. O. D値で25ppmにおいて、

3-5表 銅によるコイの血清蛋白分層の変化

	AL	GL-α	-β	-γ	AL/GL
C0	42.8	14.3	28.6	14.3	.752
0.1ppm	30.8	10.7	31.0	15.3	.451
0.2ppm	33.0	22.0	33.0	11.0	.493
0.5ppm	0.0	40.0	50.0	10.0	.000
1.0ppm	0.0	50.4	41.6	8.0	.000
2.0ppm	22.0	23.0	55.0		.282

したがって、

銅濃度 2.0ppm の水中で斃死したものの特徴としてグロブリン-γの減少を考えることができる。酸・アルカリ

銅の低濃度の水中で与えられる影響は慢性毒作用と考えられ、またこの実験の鉛の場合は明らかに慢性毒による影響であるが、銅の高濃度における斃死は急性毒によるものと推察される。したがって急性毒による場合と慢性毒による場合とでは血清蛋白泳動像への変化の現われ方に相異があるものと推察できる。ここで血清蛋白組成に対する影響濃度の推定値を3-6表に示す。

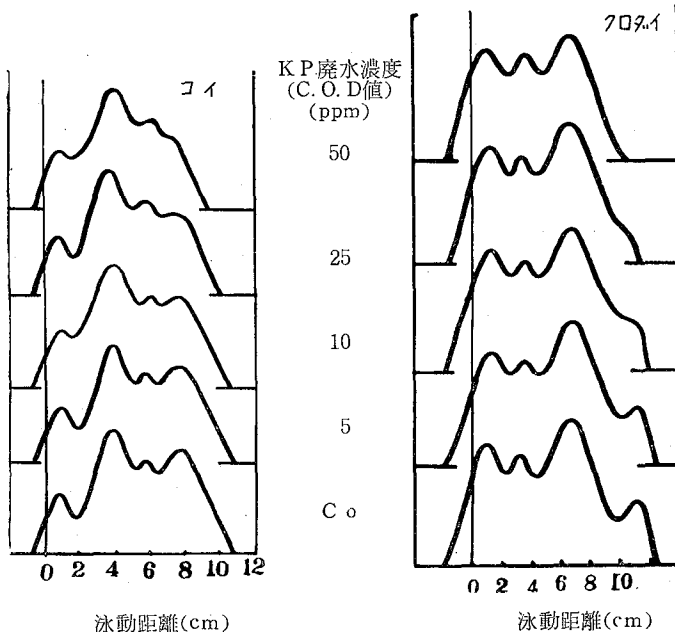
3-6表 血清に対する各種薬品の影響濃度

	分層数減少	AL減少
酸 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	ppm 20	ppm 5-10
アルカリ (NaOH)	40	10
銅 (CuSO <sub>4</sub> )	0.5	0.1

ここで「分層数減少」として示したものは正常魚の持つ分層数4個が減少する濃度であり、血清蛋白組成に変化が生ずる濃度である。また「AL減少」として示したものはアルブミンの減少が生ずる濃度であり、血清蛋白性状に変化が生ずる濃度である。

バルブ廃水による影響を検討するために、クラフトバルブ廃水を用いて、

3-30図 バルブ廃水に飼育した魚の血清蛋白泳動曲線



3-7表 KP 廃水による血清蛋白分層の変化  
クロダイ

	AL	GL- $\alpha$	$-\beta$	$-\gamma$	AL/GL
C o	10.2	47.6	16.8	25.4	.144
5ppm	9.4	48.0	17.0	25.6	.104
10ppm	7.3	49.1	17.8	25.8	.079
25ppm	4.7	50.6	18.4	26.3	.049
50ppm	0.0	54.1	19.1	26.8	.000

コイ

	AL	GL- $\alpha$	$-\beta$	$-\gamma$	AL/GL
C o	41.7	14.9	29.8	13.6	.715
5ppm	38.4	16.0	30.9	14.7	.623
10ppm	39.7	15.7	30.5	14.1	.658
25ppm	33.1	18.2	33.8	14.9	.495
50ppm	6.6	20.3	46.7	26.4	.070

(廃水濃度はC. O. D値)

ここで、バルブ廃水のコイおよびクロダイの血清蛋白性状に対する影響濃度は3-8表に示したものと推定される。

3-8表 血清に対するバルブ廃水の影響濃度

	分層数減少		AL減少
	ppm	ppm	ppm
コイ	50	10-25	
クロダイ	50	5-10	

廃水濃度：C. O. D値

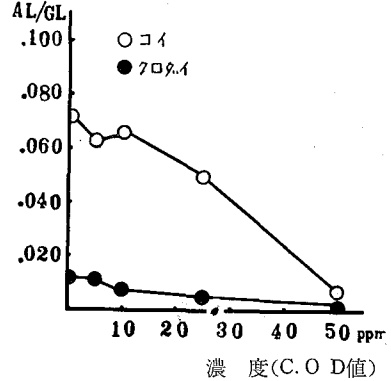
一方、実際にクラフトバルブ廃水の波及する海域に活簀を設置して行なった第一回実験のマダイについての結果および第二回実験のクロダイについての結果を3-32図・3-33図および3-9表に示す。

いずれの場合も沖合から廃水口に近づくにしたがって泳動曲線の変化が著しくなっていくのが見られ、3-24図および3-35図に示したAL/GL比の比較においてその変化の状態をより明らかに見ることができ。

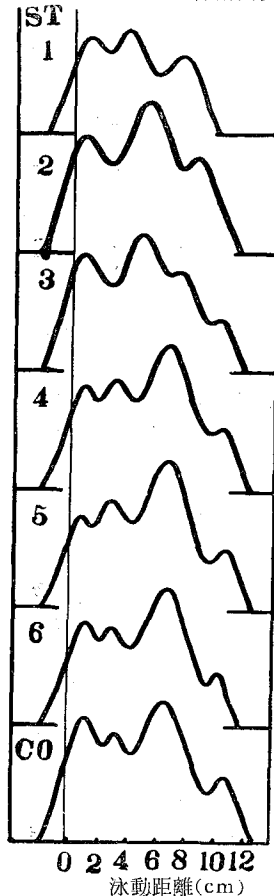
第一回実験のマダイでは st. 5 に設置した活簀のものにはすでに異常

またクロダイでは10ppmにおいて著しい変化が見られ、その過程におけるアルブミンの減少の状態は3-31図に示したAL/GLの変化によって明らかに認められる。

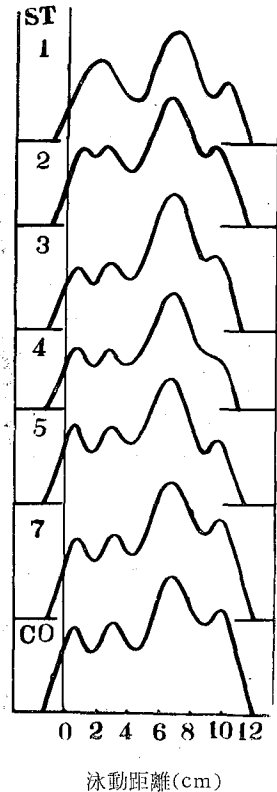
3-31図 バルブ廃水中に飼育した魚のAL/GL比



3-32図 「いけす」に飼育したクロダイの泳動曲線



3-33図 「いけす」に飼育したマダイの泳動曲線



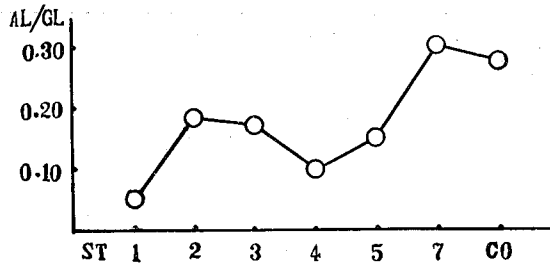
3-9表 各点における血清蛋白分層  
クロダイ

ST	AL	GL- $\alpha$	$-\beta$	$-\gamma$	AL/GL
Co	11.0	43.9	17.6	25.5	.124
1	0.0	31.4	29.4	39.2	.000
2	0.0	17.8	46.5	35.7	.000
3	1.5	14.1	50.0	34.4	.015
4	4.7	51.3	23.0	21.0	.049
5	5.7	57.2	22.9	14.2	.060
6	7.0	55.0	16.9	21.1	.075

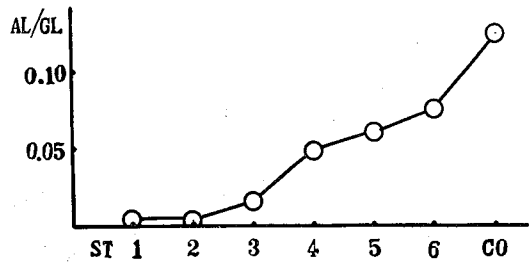
マダイ

ST	AL	GL- $\alpha$	$-\beta$	$-\gamma$	AL/GL
Co	21.4	41.1	19.6	17.9	.272
1	4.7	45.3	40.0		.049
2	15.5	53.6	16.9	14.0	.183
3	14.5	56.6	17.4	11.5	.169
4	8.8	54.4	22.8	14.0	.097
5	13.1	48.6	21.1	17.2	.149
6	23.0	44.0	18.0	15.0	.299

3-34図 各点におけるマダイ血清のAL/GL比



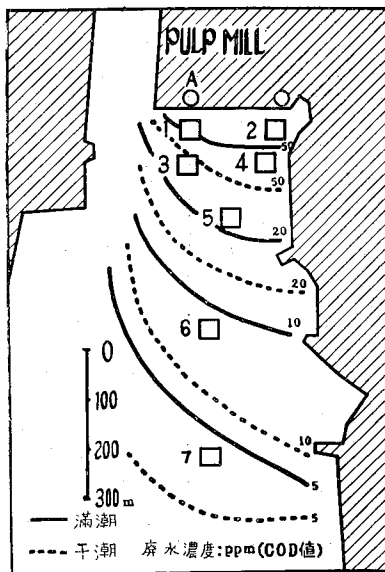
3-35図 各点におけるクロダイ血清のAL/GL比



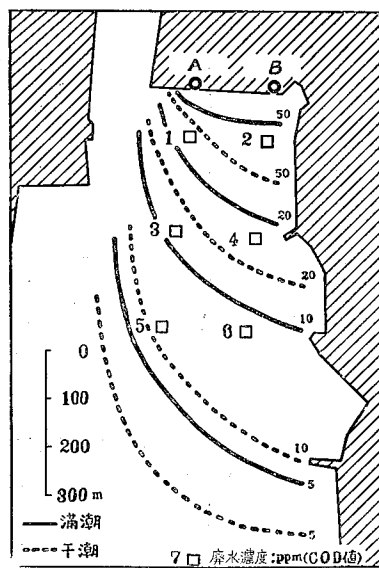
が見られている。

この海域における廃水の分布状態および活簀への廃水の波及状況を見ると、3-36図・3-37図および3-10表に示すようなものであり、廃水濃度がC. O. D値で5~10ppmの廃水が波及したり、しなかったりする条件でこのような著るしい変化が見られていることになる。

3-36図 第1回実験における「いけす」位置と廃水の分布状況



3-37図 第2回実験における「いけす」位置と廃水の分布状況



3-10表 「いけす」の条件と12時間後の状態

A. 第1回実験

活簀番号	廃水口よりの距離	与えられた条件	12時間後の状態
1	A廃水口 直前	常に濃い廃水が波及	3尾共死
2	B廃水口 直前	同上	同上
3	A廃水口より 100m	常に薄い廃水が波及	3尾共生存
4	B廃水口より 100m	同上	3尾共死
5	廃水口より 200m	廃水が波及する時がある	3尾共生存
6	廃水口より 300m	同上	活簀破損流失
7	廃水口より 800m	廃水は波及しない	3尾共生存

B. 第2回実験

活簀番号	廃水口よりの距離	与えられた条件	12時間後の状態
1	A廃水口より 100m	常に薄い廃水が波及	1尾死
2	B廃水口より 100m	同上	2尾死
3	A廃水口より 300m	廃水が波及する時としない時がある	1尾死
4	B廃水口より 300m	同上	死なし
5	A廃水口より 500m	廃水が時々波及する	1尾死
6	B廃水口より 500m	同上	死なし
7	廃水口より 1,200m	廃水は全く波及しない	同上

ここで、活簀実験結果に見られる血清蛋白性状の変化について見ると、3-32図に示したマダイを用いた実験において、st. 2のもの以外はすべてアルブミンの減少であるが、st. 1およびst. 2のものはグロブリン-βおよびγの変化と見るべきである。

また、3-33図に示したクロダイの変化はすべてアルブミンの変化と見ることが出来る。3-10表に示したように、マダイの場合のst. 1およびst. 2のものは、すべて斃死しており、活簀の位置から見ても廃水が急性毒として働いたものと想像

され、この症状はすでに述べた銅が急性毒として働いた場合と類似している。

このように、バルブ廃水についても、廃水が急性毒として働く場合と慢性毒として働く場合とでは血清蛋白性状の変化に差異が生ずるものと解される。

2 魚類の主要器官に対する影響を評価するための病理組織学的および細胞化学的研究

緒 言

廃水の魚類に対する影響を評価するにあたっては、魚類の生理作用に重要な役割を果している主要器官に対する影響を検討する必要がある。廃水の影響が斃死、あるいは生理機能を低下させる以上、そこには主要器官に対する影響が生じていることは容易に想像しうる。この生じている影響を評価する方法があれば、これを通じて魚類の生理作用に対する廃水の影響を評価することが可能である。このような見地において、病理組織学的および細胞化学的研究は重要な意義を持っている。魚類の生理は他の高等脊椎動物と比較して多少の相異があり、その内部主要器官の構造および機能に若干の差異があるが、魚類は各生理作用に応じた独立した器官を持っているので、それぞれの主要器官の機能・構造に対する廃水の影響を知ることにより、生理作用のどのような部分に影響が生じているかを知ることができる筈である。

このような考えのもとに、魚類の主要器官に対する病理組織学的および細胞化学的影響の検討を行なった。

研究 方法

バルブ廃水が波及する水域において活簀に飼育した魚を用いて廃水の魚類に対する影響を検討すると共に同じ廃水を用いた室内実験で現われた諸症状および症状の現われる時間的経過について検討を加えた。すなわち、第三章1節e項に述べたと同じ活簀内にクロダイ（平均体長20cm）を飼育して12時間後における症状を検討した。一方、室内実験においてはコイ（平均体長25cm）およびクロダイを用いて現われた症状を観察し、検討を行なった。



供試魚の体内諸器官を摘出して、これらの細片をカルノア氏液もしくは10%中性フォルマリン液を用いて固定、常法にしたがって5~7μの厚さのパラフィン切片を作製して、それぞれの目的に応じて染色、検鏡した。

病理組織学的検討には主として「ヘマトキシリン・エオシン染色」を、細胞化学的検討のうち多糖類の分布および消長については「McManus-Lillie の過ヨード酸 Schiff 反応」(PAS反応)を、RNA (Ribose Nucleic Acid: リボ核酸) およびDNA (Desoxyribose Nucleic Acid: デオキシリボ核酸) の分布および消長については「Kurnick のピロニン・メチルグリーン染色」を試みた。また、鉄沈着の観察には「タンブル・ブルー (Turnbull-blue) 染色」を行なった。

細胞化学的観察において、実質細胞の物質保有は固定法の良否によって左右され易い。しかし、これは新鮮な試料を用いて、できる限り小さな細片として固定することによって防止することができるので、標本の作成にあたってはこの点に十分留意した。

ヘマトキシリン・エオシン染色およびPAS反応には術式の技術的操作上大きな誤りをおかす恐れはない。しかし、ピロニン・メチルグリーン染色はピロニンの不純のために生ずる染色の不均一などが生ずる恐れがあるので、十分精製して使用した。

活簀実験において飼育した魚については、小腸、肝臓、脾臓および腎臓の観察を行ない、室内実験のものでは上記のものに鰓の観察を加えた。

## 研究結果

廃水の波及する水域に設置した活簀の位置およびこの水域の廃水の分布状況を3-38図に示し、またこれらの活簀の中で飼育された魚に見られた症状を3-11表および図版I~XIVに示す。

ここで、観察された主な症状について述べる。

### 肝臓:

#### 肝細胞の変化

##### 1) 肝細胞のRNA

汚濁のない海水中で飼育された魚の正常肝細胞にはRNAが多く含まれている。

廃水口から500m以上離れた所に飼育された魚ではRNAは正常に近いが、廃水口から500m以内のものでは消失もしくは減少していた。また、同じ廃水口から300mの距離に設置した活簀についても、st. 3で飼育した魚に較べてst. 4で飼育した魚の方がRNAの減少は少なかった。(図版I)

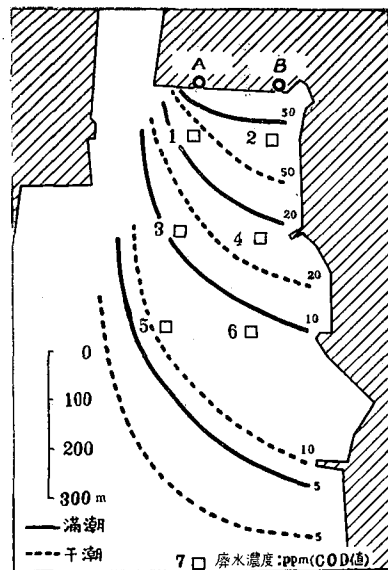
##### 2) 肝細胞の多糖類

過ヨード酸 Schiff 反応は1-2 グライコール基をもつ高分子炭水化物を酸化して露出したアルデヒド基の試薬による発色であって、唾液消化試験を行なった結果から見て肝細胞に見られる多糖類の大部分はグリコーゲンである。

正常魚の肝臓ではグリコーゲン量が非常に多く認められるが、廃水口から100mおよび300mの地点にあるst. 1, 2, 3の活簀内の魚のグリコーゲンは全消失に近いが、同じ300mであってもst. 4のものは全消失の段階にまでは至っていない。この傾向はRNAの場合と同様の結果である。3-10表に示した12時間飼育後の魚の状態はst. 3では斃死魚を認めているが、st. 4では斃死魚はなかった。

したがって、同じ300mの距離であっても廃水の波及状況に差異があるものと想像され、この結果が斃死魚の有無あるいはRNA、グリコーゲンの減少消失の程度の相異となって現われているものと推察される。

3-38図 活簀を設置した海域における廃水の分布



3-11表

「いけす」に飼育されたクロダイに見られた変化

		排水口から100m		排水口から300m				排水口から500m				排水口から1200m					
		1	1	2	2	3	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	7
観察された変化		供試魚の標本 いけすの番号		供試魚の標本 いけすの番号		供試魚の標本 いけすの番号				供試魚の標本 いけすの番号				供試魚の標本 いけすの番号			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
腸	小腸																
	粘膜上皮の増進																
	五状細胞分泌増進																
	粘膜上皮の壊死																
	粘膜上皮の脱落																
肝臓	肝細胞																
	リボ核酸の減少																
	多糖類の減少																
	金針沈着																
	脂肪沈着																
	胆管系																
	胆管系																
	胆管系																
	胆管系																
	胆管系																
脾臓	脾臓																
	脾臓																
	脾臓																
	脾臓																
	脾臓																
	脾臓																
	脾臓																
	脾臓																
	脾臓																
	脾臓																

備考：□変化なし □変化認める ■変化著しい ■変化特に著しい

設置した活簀のものに、いずれもグリソン氏鞘の動脈に変化が見られた。これらの変化は、内皮細胞核濃縮、動脈狭窄、萎縮、内膜細胞剥離、中膜肥厚変性、中膜水腫などであった。また、明らかに動脈内膜炎と考えられる変化が st. 1, 2, 3 のものに見られた。血管内に見られる正常血球は多糖類を多く持ち、st. 5, 6, 7 のものは正常に近いが、st. 1, 2, 3, 4 までのものには多糖類の減少が見られ、血管内血液の質的変動が推察される。動脈に見られる変化は、この血液の質的変動によって生じている疑いが濃い。(図版Ⅲ)

門脈の変化

門脈に見られた変化はいずれも門脈拡張が甚だしく、鬱血、血管壁結合織の溶解、水腫、管外出血が st. 1, 2, 3 の魚に見られた。これらの門脈系の変化は、かなり強度の毒性によるものと推定される。(図版Ⅴ)

静脈洞の変化

静脈洞内には多糖類反応陽性の顆粒および顆粒状の栓塞が st. 2, 3, 4 の活簀のものに見られた。これらは鉄反陽性であり、血球溶解に伴う血色素に由来するものと考えられる。(図版Ⅲ)

脾臓の変化

門脈を取囲んでいる腺構造が脾臓であって、クロダイ、コイではグリソン氏鞘の位置にある。

st. 3 は st. 4 に較べて廃水の影響を強く受けたものであろう。(図版Ⅱ)

3) 肝細胞の鉄沈着

正常魚の肝細胞では鉄顆粒の沈着が認められたが、活簀に飼育されたものでは殆んど認められなかった。

胆管系の変化

胆管上皮細胞には所々に盃状細胞様細胞に多糖類を持ち、一般的に多糖類は多いが st. 1 および st. 3 に飼育したものでは多糖類が減少していた。

RNAは上皮細胞に保たれているが、st. 1, 2, 3, 4 の活簀のものは減少していた。

また、st. 1, 2, 3 の活簀のものは、胆管拡張、周囲結合織変性(空胞化)、胆管上皮剥離、内腔器質化したもの、および萎縮しているものもあった。また、明らかに胆管の炎症と認められるものもあった。

これらの変化は、廃水口より500m以上の距離であるst. 5, 6, 7 に設置した活簀のものには認められなかったため、廃水口から300m以内のものに特有のものと考えられる。(図版Ⅲ)

動脈の変化

A 廃水口の側である st. 1, 3, 5 およびB 廃水口側のst. 2, 4 に

脾臓は極めてRNAに富み、多糖類は持たない。RNAの保有度は、st. 6, 7の活簀に飼育されたものは正常魚と同様であるが、st. 1, 2, 3, 4, 5のものは減少しており、特にst. 2のものに著るしく認められた。それと同時に脾臓腺構造の解離が見られた。これは連続性を持った脾臓腺細胞が遊離して円形細胞化するもので、退行性変化の一像と考えることができる。この解離像はst. 6の魚にも見られているが、廃水口近くのst. 2のものでは特に著るしく認められた。(図版Ⅳ～Ⅴ)

脾臓:

脾臓内の主な変化は組織内出血が著明であり、これはst. 2, 3, 4のものに認められる。

前述した静脈洞の鉄栓塞および動脈内血液の変化の症状と共に血液組成が影響されていることは明らかである。(図版Ⅵ)

腎臓:

腎臓に見られる著るしい変化は、細尿管壁細胞の核の消失、細尿管中に細胞の出現が見られた外、多糖類変性が見られた。また、一部には血管中に紡錘状細胞が出現し栓塞を起しているが、これは血小板によるもの

のと想像される。また、腎臓内血球の一部に赤血球の死すなわちDNAの低分子化が見られ、ここにも血液に変化が生じている。これらは、いずれもst. 1, 2, 3, 4の活簀のものに認められ、st. 5, 6, 7のものには認められない。(図版Ⅶ～Ⅷ)

小腸:

小腸に見られる変化は非常に顕著であり、粘膜上皮の粘液分泌昂進、盃状細胞の分泌昂進、粘膜上皮細胞の壊死脱落が見られ、また粘膜下組織に変性が見られる外一部に水腫、充血が認められた。

粘膜上皮の分泌昂進および盃状細胞の分泌昂進は、st. 1, 2の活簀のものに特に著るしく認められたが、st. 3, 4, 5, 6のものにまで認められており、廃水口から500mのものまでこの変化は著明である。

粘膜上皮細胞の壊死および脱落はst. 1, 2, 3の比較的廃水口に近い活簀のものに認められている。

これらの変化は一連のものであって、廃水の毒性の程度に応じて分泌昂進、壊死、脱落と推移して行くものと推察される。(図版Ⅸ～Ⅺ)

これらの現象から、廃水が消化管を通過していることは明らかであって、経口的に毒物が吸収されることは注目しなければならな

3-12表

KP廃水中に飼育した魚に見られた変化

観察された変化	魚種								
	クロダイ				コイ				
廃水濃度 (COD)	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	
	5	10	25	50	5	10	25	50	
小腸	粘膜上皮分泌昂進								
	盃状細胞分泌昂進								
腸	粘膜上皮の壊死								
	粘膜上皮の脱落								
肝臓	肝細胞								
	胆管系								
脾臓	脾動脈系								
	門脈系								
腎臓	腎臓								
	脾臓								

備考: □ 変化なし    ◻ 変化を認める    ◼ 変化著しい    ◼ 変化特に著るしい

3-13表 各種薬品およびKP 廃水による鰓の影響

主な症状	濃度(ppm)		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		NaOH		CuSO <sub>4</sub>		K P 廃水		
	5	20	30	90	0.2	2.0	5	10	25	50	
粘液分泌昂進											
懸濁物の附着											
鰓糸の壊死剥離											
出血											

クロダイ

主な症状	濃度(ppm)		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		NaOH		CuSO <sub>4</sub>		K P 廃水		
	5	20	30	90	0.2	4.0	5	10	25	50	
粘液分泌昂進											
懸濁物の附着											
鰓糸の壊死剥離											
出血											

(K P 廃水濃度はC O D 値)

3-14表 各種症状の出現と飼育時間

観察された変化	廃水中での飼育時間					
	4	6	8	10	12	24
小腸	粘膜上皮分泌昂進					
	盂状細胞分泌昂進					
	粘膜上皮の壊死					
	粘膜上皮の脱落					
肝臓	肝細胞					
	リボ核酸の減少					
	多糖類の減少					
	鉄沈着					
胆管系	脂肪沈着					
	拡張					
	結合組織の変性					
	上皮組織の解離					
脾臓	萎縮					
	硬化					
	内皮細胞核濃縮					
	動脈狭窄					
門脈系	上皮剥離					
	中膜肥厚変性					
	中膜水腫					
	拡張					
腎臓	充血					
	結合組織の解離					
	結合組織の水腫					
	周囲の出血					
腎臓	水腫					
	血栓					
	リボ核酸の減少					
	解離					
腎臓	細尿管細胞消失					
	多糖類変性					
脾臓組織内出血						

備考: □ 変化なし ■ 変化が認められる ■ 変化が著しい ■ 変化特に著しい

ここでクロダイに見られた症状を見ると、実際の活質実験と比較して大体同様の結果が得られているが、胆管系・肝動脈系および門脈系に対する影響は活質における飼育実験の結果と比較して軽微であるのが認められた。これは廃水を運搬・保存したために毒性が減少したものと推される。定室内飼育実験の結果からは、廃水の濃度の増加と共に魚に見られる症状も著しくなっていくのが見られ、50ppm (C. O. D 値) の濃度のものに飼育した魚の症状は、活質実験においてst. 1, 2に飼育した魚の症状に酷似しており、3-38図に示した廃水分布状態から推定される活質の条件と良く一致している。また、小腸に見られる粘膜上皮の分泌昂進および盂状細胞の分泌昂進は5ppmの濃度ですで見られるが、活質実験ではst. 5および6で認められ始めておりこの点についても良く一致している。したがって、病理組織学および細胞化学的影響が生ずる廃水濃度はC. O. D 値で5~50ppmと推定される。

一方、クロダイの症状とコイのものと比較すると、コイはクロダイ程著しい影響を受けていない。特に小腸に対する影響において著しい差異が見

特に著しい  
認められる  
症状が認められない

い。

以上述べたように、廃水の波及する水域に活質を設置して飼育した魚には種々の病理組織学および細胞化学的影響が見られている。これらの症状はいずれも廃水口に近づくにしたがって重症化して行くのが見られるので、廃水の影響によって生じたものと認めることができる。

室内においてバルブ廃水を用いて行なった飼育実験の結果を3-12表に示す。

られる。一般に海産魚は水を飲むが、淡水魚は飲まないとされている定説を裏付ける一例と言い得る。

クラフトバルブ廃水は淡水中では良く溶解するが、海水中では樹脂の懸濁物を生ずる。この差異は鰓に見られる症状に顕著に現われており、コイおよびクロダイをクラフトバルブ廃水および数種の薬品を混合した水中で12時間飼育した結果を3—13表に示す。

ここに見られる主な症状は、クラフトバルブ廃水では粘液の分泌昂進、懸濁物の附着、鰓弁の壊死剥離、出血であるが、コイにおいてはクロダイに比較して、その症状は軽い。これは鰓に対する廃水の影響が毒性の懸濁物によって生じていることを示している。

同じく銅を用いた実験において、硫酸銅は淡水中では良く溶解するが海水中では大部分が水酸化銅となって懸濁する。ここでコイとクロダイに見られる症状の差異は、コイには懸濁物の附着が全く見られないのに対して、クロダイでは著しく認められることである。また、アルカリ(NaOH)を使用した実験についても、コイには懸濁物の附着が見られないのに対して、クロダイでは著しく認められる。これはアルカリを海水中に混合した場合、マグネシウムの懸濁物が生ずることに起因するものである。

ここで酸の一例を示したが、酸は海水中では中和され魚に対する毒性が弱まるものである。

このように、廃水の影響は淡水魚と海産魚との生理的相異によって異なるのみでなく、廃水が淡水あるいは海水に放出された場合の特性の相異もまた淡水魚と海産魚に対する影響の差異となって現われてくるのが注目される。

廃水中での飼育によって生ずる諸症状の出現の時間的経過についての結果を3—14表に示す。これはコイを用いて廃水濃度50ppm(C. O. D値)で飼育した場合の結果であり、肝細胞のグリコーゲンの減少は4時間後にすでに認められ、大部分の症状は8時間でほぼ同時に現われている。このように4~8時間という比較的短時間内にこれらの症状が現われることは注目すべき事実である。

### 3 魚類の主要器官内脱水素酵素反応に及ぼす影響

#### 緒 言

<sup>98)</sup> Seligman の報告が発表されて以来脱水素酵素反応の生理学での応用が広く行なわれるようになり、生化学・医学の面での応用は著しい発展を見ている。

特にコハク酸脱水素酵素反応の応用分野は広く、医学の基礎的研究などに応用されている。

この脱水素酵素は細胞のミトコンドリアに存在するといわれ、細胞呼吸に大きな役割を果している。

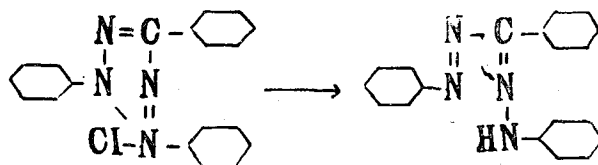
医学における病理学の分野では、疾病の評価などに大きな成果をあげているが、水産研究の分野では殆んど用いられていないようである。しかしながら、廃水の水産生物に及ぼす影響の評価などについては有用な方法の一つであると考えこの研究を行なった。

#### 研究 方法

テトラゾリウムの化合物が発見されるまでは、脱水素酵素反応の検出にはメチルブルーが使用されていたが、Seligman がテトラゾリウム化合物を使用して以来この方法が一般的となっている。

テトラゾリウム化合物は脱水素酵素反応を検出するのに適した酸化還元電位を持ち、大体-0.08Vである。この化合物は黄色を呈しており、この種の実験のためには水溶液が使用される。一定のpHと温度の条件下で基質としてコハク酸を加えた液中で反応させると、コハク酸脱水素酵素を持った生体が存在している場合、その水素原子はテトラゾリウム化合物を還元してフォルマザンが形成され変色する。このフォルマザンは安定であって水に不溶である。

現在使用されているテトラゾリウム化合物は数種あるが、T. T. C (2-3-5 triphenyl tetrazolium chloride) が最も一般的であり、本研究においてもこの化合物を使用した。T. T. C のフォルマザン形成の原理は次のようなものである。



この反応でT. T. Cは triphenylformazan に変化して、赤色に変色するので比色法によって脱水素酵素反応を測定することができる。

本研究においては、Seligman の方法にしたがって行なった。すなわち、次の3種類の指薬を調製して、下記の割合の混合液中で反応させた。

1. 0.2% T. T. C水溶液……………1部
2. 0.2Mコハク酸ソーダ液(コハク酸ソーダ: 32.43 g/Lの水溶液)……………1部
3. 0.1M磷酸緩衝液(pH: 7.6)(第一磷酸ソーダ: 1.56 g,  
第二磷酸ソーダ: 28.64 g, 蒸溜水: 900cc)……………1部
4. 蒸溜水……………1部

魚類についてのコハク酸脱水素酵素を測定した文献は極めて少なく、その測定法もあまり検討されていない。わずかに、福田が<sup>28)</sup> 2.6 Dichlorophenol indo-O-chlorophenol (D P I C P) を用いて魚体について検討を加えているに過ぎない。福田はT. T. C試薬を用いて測定するよりも、D P I C Pによる方が魚体組織については適している旨を述べているが、本研究における測定目的は廃水による病変組織と正常組織との間の活性度の比較が主であって、かなり大きな差異を比較するのでT. T. Cによる比色法によって十分その目的を達せられると考え、従来広く行なわれているT. T. C法によって測定した。

数種の薬品および廃水を混合した水中でコイを24時間飼育、その肝臓、腎臓、腸および鰓について測定を行なった。

実施した方法の術式を下に述べる。

i) 摘出した臓器を直ちにホモチナイザーによって粉碎。

ii) 試料を試験管に採り、前述の指薬を試料量の5倍加え、良く振盪して37°Cで2時間放置。

陸上動物については試料1に対して指薬2の割合が適しているといわれるが、魚体組織ではこの比率では不十分であったので、予備実験の結果上記の比率が適していることを確かめ実施した。また、反応時間については、予備実験の結果、37°Cで放置する方法では完全に反応が終えるために1時間を要し、その後は変化しないことを知ったが、なお十分な反応時間を与えるために2時間呈色反応を行なった。

iii) 遠心分離によって集めた試料の上澄液を捨て、沈澱に氷醋酸2ccとトルエン5ccを加えてよく振盪し、遠心分離して試料中のフォルマザンをトルエンに移し、光电比色計で波長530mμを用いて比色。

T. T. Cから作られたフォルマザンは殆んどすべての有機溶媒に可溶である。しかし、魚体組織特に鰓のような水分を多量に含み、簡単に分離できないものでは、水に可溶の溶媒を用いるとフォルマザンの濃度が低下するので測定の見誤差を招き易い。したがって、水に不溶の溶媒による方が適当であると考え、トルエンを用いて抽出した。

正常な良く管理された養魚池で飼育されたコイ20尾を選んで測定を行なった結果、正常と認められる範囲は平均値を100とした場合100±19であった。

この範囲にあるものを正常として、ここから逸脱するものを異常と認めて影響濃度の推定を行なった。なお、棄却域の算定は血液性状の場合と同様に行なった。

### 研究結果

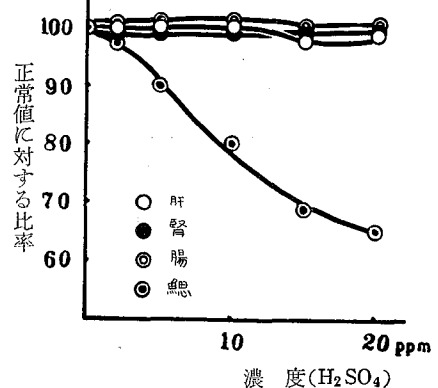
コイの各部位におけるコハク酸脱水素酵素反応の比較を3-15表に示す。これによると肉部に比較して内臓諸器官は著るしく脱水素酵素反応が高く、体内主要器官に

3-15表

コイの各部位における脱水素酵素反応の比較(肉部を1とする)

臓器	比率
肉	1.00
鰓	3.75
肝	3.46
腎	3.63
腸	3.15
卵巣	1.17

3-39図 酸によるコイ主要器官の脱水素酵素反応の変化



おけるこの反応の重要性を示している。

酸 ( $H_2SO_4$ ), アルカリ ( $NaOH$ ) および銅 ( $CuSO_4$ ) の溶液中にコイを24時間飼育した場合の結果を3—39図～3—41図に示す。

ここで、酸およびアルカリについては鰓の反応に著しい変化が見られるが、体内諸器官の反応は殆んど変化していない。

一方銅による影響は、鰓の反応の低下だけでなく、同時に内臓諸器官の肝臓および腎臓にも及んでいる。この結果から、酸、アルカリの魚に及ぼす毒性は鰓に影響が大きく、体内には侵入していないようであるが、銅のような物質では鰓に対してだけではなく、体内へも侵入しているものと推察される。これらの薬品はいずれも魚類に対しては腐蝕毒として働くものといわれるが、酸、アルカリおよび銅の間には本質的な毒性の差があるといえる。

このように、魚類に対する毒性物質の影響を比較的良く表現する方法は、生理作用に及ぼす廃水の影響の検討の一助となり得る。

ここで、クラフトパルプ廃水を用いて行なった実験結果を3—42図に示す。

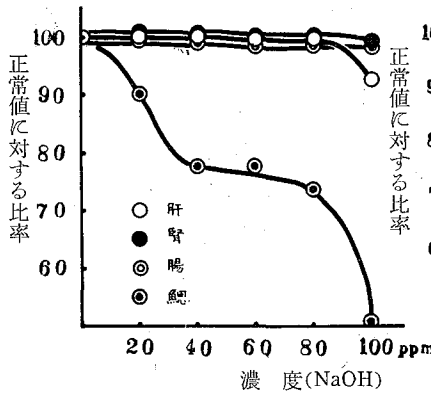
ここに見られる特徴は鰓の反応が急激に増加していることであるが、T. T. Cは脱水素酵素のみでなく還元性物質の存在によって発色するために、これは鰓に附着した廃水によるものと推察される。附着した廃水を除去するため、清浄な水で洗浄を行なったが効果は認められなかった。粘液と共に鰓の細部に附着しているものと想像される。一方、内臓諸器官に対する影響では、肝臓の反応が低下しており、廃水の影響が肝臓に及んでいることを示している。

これらの結果から、各種薬品およびパルプ廃水の脱水素酵素反応に及ぼす影響濃度は3—16表に示したような値であると推定される。

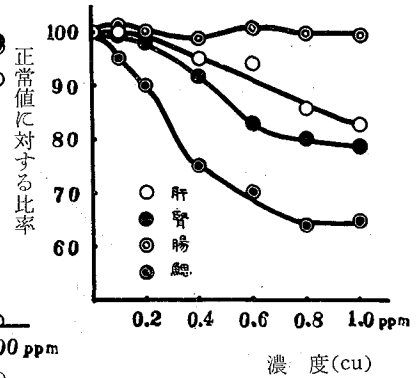
#### 4 論 議

血液学的性状の変化から見たパルプ廃水の魚類に及ぼす影響として、低濃度の廃水中に飼育した魚類について、ヘモグロビン量および赤血球数の増加が見られた。空中露出によって窒息状態を与えた場合のヘモグロビン量および赤血球数はいずれも増加しており、また<sup>54)</sup> 符合は多量の懸濁物を水中に混合して窒息状態を与えた場合、ヘモグロビン量および赤血球数が増加することを報告している。したがって、低濃度のパルプ廃

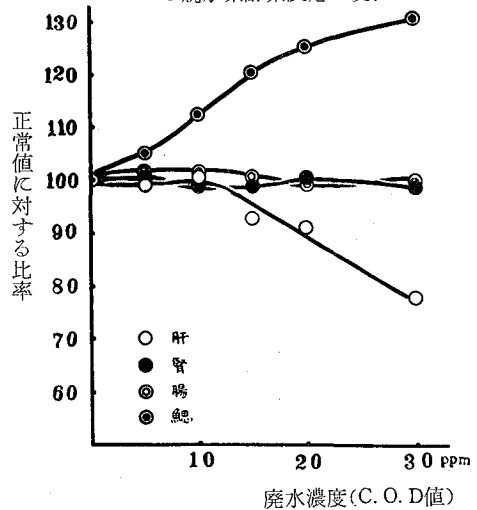
3—40図 アルカリによるコイ主要器官の脱水素酵素反応の変化



3—41図 銅によるコイ主要器官の脱水素酵素反応の変化



3—42図 K P 廃水によるコイ主要器官の脱水素酵素反応の変化



3—16表 コイの脱水素酵素反応に及ぼす影響濃度

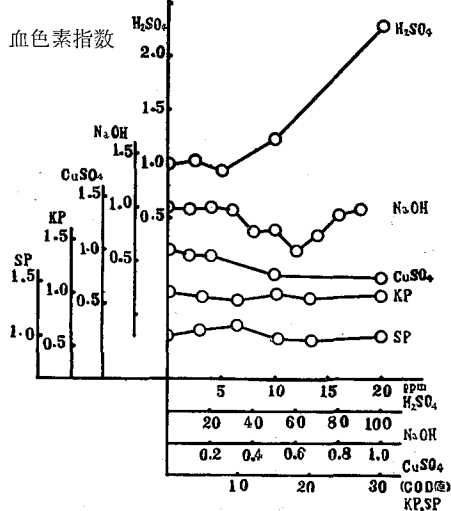
酸 ( $H_2SO_4$ )	アルカリ ( $NaOH$ )	銅 ( $CuSO_4$ )	パルプ廃水 (K P)
ppm	ppm	ppm	ppm
10	30	0.3	25

廃水濃度: C. O. D 値

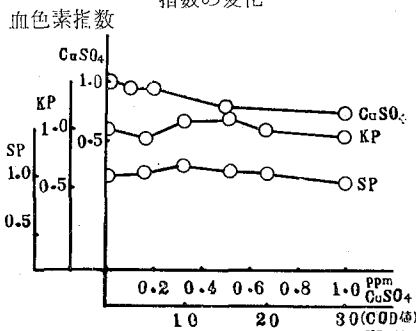
水は窒息状態を魚類に与えるものと解される。

廃水濃度の増加と共に、ヘモグロビン量および赤血球数は減少し、高濃度の廃水の影響として貧血状態が生じている。ヘモグロビン量と赤血球数の関係を検討するために、血色素指数の変化を研究結果から求めたものを3—43図および3—44図に示す。

3—43図 コイの血色素指数の変化



3—44図 クロダイの血色素指数の変化



バルブ廃水に飼育した場合の血色素指数は、コイおよびクロダイ共に殆んど変化が見られず、1.00に近い値を示した

は、少なくともC. O. D値で30ppmの濃度までは溶血の疑いはないが、バルブ廃水によるヘモグロビン量および赤血球数の減少は明らかに血液性状に対する影響を示している。また、このような血液性状に対する変化は血液比重および赤血球抵抗についても認められる。血液比重は血球数と血清比重の変化によって支配されるので、赤血球数の減少が甚しい以上血液比重の減少は当然の結果である。しかし、赤血球抵抗の変化はかなり特徴的であって、廃水および薬品の濃度が一定の限界を越えると急激に変化するのが見られ、血液性状に急激な変化を与える状態が生じていると予想できる。血液性状の他の項目についても、それぞれ急激な変化が、ある濃度を境として生じているが、これらの影響濃度を3—17表に比較して示す。

3—17表 バルブ廃水および薬品の血液性状に対する影響濃度

魚種	廃水 および薬品	項目			
		ヘモグロビン	赤血球数	血液比重	赤血球抵抗
コ	酸 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	5—10	5—10	5—10	5—10
	アルカリ (NaOH)	30—40	60—80	60—80	50—60
	銅 (CuSO <sub>4</sub> )	0.2—0.5	0.2—0.5	0.2—0.5	0.2—0.5
イ	バルブ廃水 (KP)	5—10	10—15	10—15	15—20
	バルブ廃水 (SP)	30	30	30	30
ク ロ ダイ	銅 (CuSO <sub>4</sub> )	1.0—1.5	1.0—1.5	1.0—1.5	1.0—1.5
	バルブ廃水 (KP)	5—10	5—10	5—10	10—15
	バルブ廃水 (SP)	30	30	20—30	20—30

バルブ廃水濃度：C. O. D値

ここで見られるように、赤血球抵抗に変化が生ずる濃度で他の血液性状にも急激な変化が生じている。

サルファイトバルブ廃水とクラフトバルブ廃水では、血液性状に変化を与える濃度に差異があり、クラフトバルブ廃水の方が1.5～3.0倍毒性が強いことを認めたが、血液性状に与える影響の本質には相異がないようである。その影響の本質は、低濃度においては窒息状態を与え、高濃度では著しい貧血状態と血液性状の変化であり、

血液性状を正常に保つことを阻害する物質が血液内へ侵入したために起こると推察される。

魚類の血清性状については、本研究において実施した沪紙電気泳動法による血清蛋白組成の検討方法に標



準法がないので、現在それぞれの目的に応じた方法が採用されている。したがって、泳動結果も研究者によって必ずしも同一のものが得られていないので、実験条件の吟味は特に重要である。

沪紙電気泳動法の問題点は大別して二つある。すなわち、技術的な面および試料の生物学的な背景である。技術的な面での最も重要な要素は、緩衝液であって、森・小林は人血の分離では Veronal 緩衝液が優れていることを述べ、<sup>95)</sup> 齊藤は魚類の血清蛋白の分離に Veronal 緩衝液を用いて好結果を得たことを報告している。本研究においても、この液を使用して十分目的を達することができたので、今後の研究にはこの緩衝液を使用して統一を図ることが必要であろう。

また、試料の条件として、血清の保存による泳動像の変化が見られた。血清採取後時間の経過と共に泳動像は不鮮明となり、また分層数にも変化が生ずる場合がある。この点について検討した結果、採取後氷室内(約5°C)で5日以内の保存では変化が見られないが、7日以上経過したものでは泳動像が不鮮明となり、10日以上では分層数にも変化を生じた。したがって、保存は5日以内に止どめ、できるだけ早く供試するのが良い。

沪紙法とチゼリウス法との比較については齊藤の研究があり、沪紙法では泳動距離の長い分層が小さい値として測定されることを報告している。したがって、本研究において血清蛋白組成の比較に用いたアルブミン・グロブリン比(AL/GL)は絶対値について幾分誤差があろうが、同一の方法と同一の条件下で実施された泳動像の比較には十分その目的を果すことができるであろう。

一方、試料の生物学的な面での最大の要素は、個体差による試料の変動である。本研究で使用した魚類では、コイに個体差がかなり見られたが、海産魚ではあまり大きな差異は見られなかった。3-18表にコイおよびクロダイのAL・GL比の範囲を示すが、コイの場合その変異は大きい。

3-18表 正常魚のAL・GL比の変動

	コイ	クロダイ
範囲	0.501—0.782	0.132—0.154
平均	0.605	0.135

これはコイが飼育魚であるために生じた差異と推察され、海産魚は自然界に生存しているので生理的欠陥のあるものは淘汰されて、最良の条件にあるものだけが生存しているのに反し、飼育魚ではかなり欠陥があるものでも生存するために生じた差異であろう。

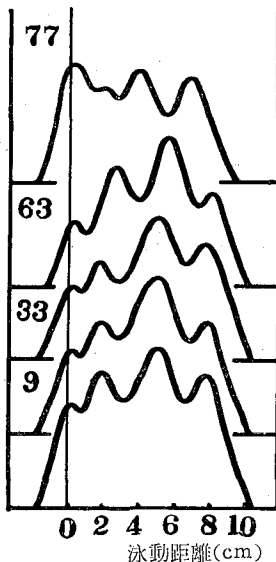
このような点を考慮すると、実験期間中における血清蛋白組成の変動が懸念されるので、マアナゴを用いて無投餌長期飼育を行ない、その変動を観察した。3-45図に示したように、77日後に差異が認められたが、63日間の飼育では差異は認められなかった。したがって、魚種の相異による差異はあるであろうが、数日に亘って行なうような実験中には飼育による影響は生じないであろう。

本研究において得られた魚類の血清蛋白分層の特性として、血清は4個の分層に分離された。齊藤の報告によれば、<sup>95)</sup> 魚類の血清は5個の分層に分れ、人血のアルブミンよりも易動度の大きい分層が存在する。

この分層数の相異は実験条件の差異から生ずるものであって、齊藤は20時間、本研究では5時間泳動を行なっている。この分層数の差は齊藤の認めている人血のアルブミンより高い易動度を持つ分層が、本研究では分離されずに分層Iの中に残っているために生じているものと想像される。しかし、分層の吟味に当って、齊藤はこのアルブミンよりも高易動度を持つ分層を分層Iと同じ性質のものとして取扱っており、本研究ではこの分層が分層Iの中に含まれたままの状態であるので、蛋白質の検討に際して支障にはならないであろう。

廃水および薬品の血清蛋白性状に及ぼす影響は、大別して3つの変化がある。すなわち、アルブミンの減少によるAL/GL値の低下、アルブミンの消失による分層数の減少およびグロブリン $\beta$ 、 $\gamma$ の分

3-45図 無投餌飼育の影響日 (マアナゴ)



離不良による分層数の減少であり、これらの症状はそれぞれ特質を持っている。

その特質について、3—19表に他の血液性状との比較を示す。

3—19表 血液性状と血清性状に対する影響濃度の対比

	血液性状		血清性状			備考
	窒息症状	性状変化	AL減	分層数減少		
			AL消失	GL分離不良		
酸 ( $H_2SO_4$ )	ppm 5以下	ppm 5—10	ppm 5—10	ppm 20	ppm	コイ
アルカリ (NaOH)	50以下	50—50	10	60		コイ
銅 ( $CuSO_4$ )	0.2以下 0.1以下	0.2—0.5 1.0—1.5	0.1	0.5	2.0(死魚)	コイ クロダイ
バルブ廃水 (KP)	15以下 10以下	15—20 10—15	10—25 5—10	50 50	st. 1での死魚	コイ クロダイ マダイ

廃水濃度：C. O. D値

血液性状の変化において、アルブミンの減少は窒息症状の段階で認められ、アルブミンの消失による分層数の減少は斃死魚に認められた。すなわち、窒息症状の段階ではアルブミンの減

少によるAL/GLの減少が見られ、AL/GL値はその症状の程度を示すものと推察され、その影響が特に著るしい場合にアルブミンの消失による分層数の減少となって現われるが、これらは慢性的な症状と見ることができる。一方、短時間で斃死したような急性毒の症状においては、グロブリン- $\beta$ 、 $\gamma$ の分離不良による分層数の減少となって現われるものと解される。

病理組織学および細胞化学的影響の研究結果は、バルブ廃水の影響が廃水中の毒性物質によって生じていることを示している。すなわち、肝細胞中に保有されるRNAについて、Szanto<sup>117)</sup>は人の正常肝および病的肝においてRNAに富む細胞質塩基性物質は核周囲および空胞周囲に多いと報告し、市川<sup>47)</sup>は馬で肝穿刺片を採取してしらべたものにRNAが極めて多かったと述べている。本研究における魚の肝細胞についても、正常魚の肝細胞は多量のRNAを保有している。

これに反して、中毒肝についてStowell<sup>108)</sup> Rosin<sup>93)</sup>およびSzanto<sup>117)</sup>はともにRNAの消失を認めており、市川<sup>49)</sup>も各種毒物の影響による肝細胞中のRNAの減少を報告している。また、肝細胞中のグリコーゲンについて、中毒性肝炎についてはStowell<sup>108)</sup>が、各種毒物による中毒については市川<sup>49)</sup>が、いずれもグリコーゲンの消失の激しいことを報告している。Stowell<sup>49)</sup>の四塩化炭素中毒肝における所見では、当初増加し、その後全消失するのを認めており、市川によれば、各種毒物をLD<sub>100</sub>、LD<sub>50</sub>、LD<sub>0</sub>の投与条件の実験で、エノバルビタール、エメチン、モノクロル醋酸、ミオアルゼノベンゾールなどではLD<sub>100</sub>の投与条件でグリコーゲンの全消失を認めており、モノクロル醋酸、ミオアルゼノベンゾールではLD<sub>50</sub>の投与条件で全消失を認めている。一方、これに反してエフェドリン、テトロドトキシンではLD<sub>100</sub>の投与条件で無変化のものもある。すなわち、毒物の種類および量によって、グリコーゲンの消長は異なる。本研究において観察された肝細胞のRNAおよびグリコーゲンの減少もしくは消失は魚類の毒物による中毒を想像させる。この外、胆管系、動脈、門脈に見られた病理組織学的な諸変化、特に動脈内膜炎は血液性状変化による動脈内壁の病変形成と考えられる。

血液学および血清学的研究結果においても、クラフトバルブ廃水による血液性状の変化を認めており、ここに見られる病変は血液性状の結果と良く一致する。動脈内に見られる血球についても、正常血球が多糖類を多く保有するのに比較して変化が見られ、したがって血管内血液の質的変動が考えられる点も良く一致している。

脾臓においては、脾臓腺構造の解離および脾臓内に保有されるRNAの減少、消失が見られた。これらの現象は連鎖的に生じているものと推察され、腺構造の解離による機能の低下によってRNAの減少、消失が生じているものと想像される。門脈の病変において、門脈の破壊およびその周囲の出血がみられるので、脾臓に見られる変化も血液性状の変化によって生じたものであろう。

脾臓の変化の主なもの組織内出血であり、この病変もまた血液性状の変化を示すものである。

腎臓に見られる細尿管壁細胞の核の消失、血管の閉塞および腎臓内赤血球の死は病的変化の起こる原因として、老廃物として排泌される物質中における毒物の存在と、血液性状の質的変化があることを示唆している。このように、体内主要器官には種々の病理組織学的および細胞化学的変化が生じており、その殆んどが血液性状の変化による影響であるといえる。

一方、鰻においてはバルブ廃水によって鰻舟の裏死、剥離が生じており、これらの病変は血液性状に変化を生ずる廃水濃度とほぼ同じ濃度で現われているので、血液性状の変化は鰻の破壊によって生じ、この結果体内諸器官に影響が生ずることは明らかである。

小腸に見られる粘膜上皮の粘液分泌昂進、盃状細胞の分泌昂進、粘膜上皮の裏死脱落は一連の変化過程と見ることができる。これらの変化は粘膜下臓の変性、水腫などと共毒物の腸管内侵入の事実を示すものであって、その毒性の程度によってそれぞれの変化が生じているものと推察される。しかし、このような小腸の変化は海産魚についてのみ認められており、淡水魚では顕著ではない。一方、小腸以外の器官では海産魚と淡水魚共ほぼ同様の変化が現われているので、これらの器官に対する影響は消化管から侵入したものによるとは考えられない。したがって、魚類に対するバルブ廃水の影響は鰻を経由して侵入した毒物による影響が主であって、海産魚では経口的に侵入した毒物の影響がこれに加わっているものと解される。

バルブ廃水の影響を病理組織学的および細胞化学的性状によって評価できることが分かったので、種々の処理を加えた廃水にコイを飼育して現われる症状を検討することによって毒生物質の評価を試みた。

加えた処理およびその結果見られた症状の変化を3—20表に示す。この結果から、1), 3), 4)の液以外のものではすべてバルブ廃水による異常の特徴である諸症状が残っている。すなわち、廃水中の毒性物質は凝集沈澱によって除去される性質を持っている。

また、廃水と共に出る樹脂状物質を混合した水では、廃水による症状と同様の症状が認められるので、樹脂状物質は廃水中の毒性物質の一つとして評価され得る。河辺・富山<sup>6)</sup>はバルブ廃水中の毒性物質として樹脂が大きく関係していることを報告しており、本研究の結果と良く一致している。

このように、廃水中の毒性物質の影響によって種々の変化が生じている中で、病理組織学的変化が魚の生理機能に異常を与えることは明らかである。また、細胞化学的変化も、グリコーゼンの体内における蓄積が生活力の指標であり、RNAは Brachet<sup>5)</sup>が述べているように蛋白合成能の指標であることから考えると魚体の生理機能の低下、活力および抵抗力の減少を示している。

これらは、脱水素酸素反応に対する影響によっても裏付けられており、肝臓のコハク酸脱水素酵素反応の低下は肝臓に影響が及んでいることを示している。

コハク酸脱水素酵素は細胞呼吸に関与する酵素であるので、肝臓の生理機能に影響が及んでいることは明らかであり、魚体の生理作用の一環に異常が生じていることを示している。

以上のような結果から、バルブ廃水の魚類に対する影響は次のように評価される。

海産魚については、廃水中に含まれる毒性物質の体内侵入経路には二つあって、一つは経口的に体内に侵入するものであり、他の経路としては鰻の崩壊による毒生物質の血液内侵入である。これらは、腸内に生ずる種々の変化、および血液性状に変化が生ずる廃水濃度と鰻が崩壊される濃度がほぼ一致していることから裏付けされる。血液を経て体内に侵入した毒生物質は血液によって体内主要器官に搬入され、種々の変化を起させている。一方淡水魚では、血管系を経て侵入した毒性物質による影響については、海産魚と同様であ

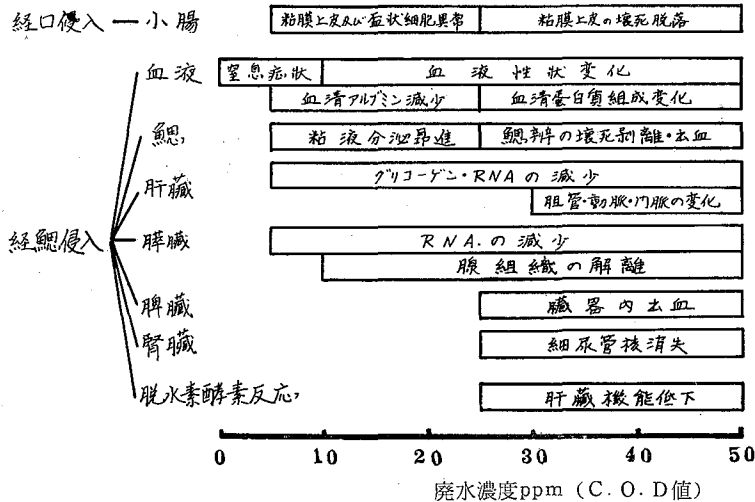
3—20表 廃水処理による症状の変化

症 状 処理の種類	肝臓内RNA減少	肝臓グリコーゼン減少	肝臓RNA減少	肝臓組織解離	胆管の変化	他の逆行性変化
正 常 魚						
1) 酸により凝集沈澱除去						
2) 活性炭を加え振盪后除去						
3) 1)液に活性炭を加え振盪后除去						
4) 塩化ナトリウムにより凝集沈澱除去						
5) 廃水と共に樹脂状物と水に添加						
6) 未処理廃水を水に添加						

るが、経口的な毒性物質の影響は少ないようである。これらの影響は廃水中の毒性物質の直接的影響であり、比較的高濃度で現われている。しかし、低濃度で現われる窒息症状も、鰓の粘液の分泌昂進による呼吸機能の低下によるものと推察されるので、この症状も廃水の影響によって生じているといえる。

ここで、バルブ廃水による魚体内の変化と、それが生ずる廃水濃度との関係は3—21表のように示すことができる。

3—21表 バルブ廃水によって魚体内に現われる主な症状



摘 要

1) バルブ工場廃水の魚類に対する影響を評価するために、血液および血清の変化、主要器官の病理組織および細胞化学的变化、主要器官の脱水素酵素反応の変化について研究を行なった。

2) 血液および血清の変化から認められるものは、低濃度では窒息症状、高濃度では貧血および血液性状の変化であり、循環器系に対するバルブ廃水の影響は大きい。

3) 病理組織学および細胞化学的变化は、低濃度では鰓の粘液分泌昂進、肝細胞のグリコーゲンおよびRNAの減少、脾臓のRNAの減少、小腸上皮粘液の分泌昂進などであり、高濃度では鰓弁の壊死脱落による鰓の崩壊、肝細胞のグリコーゲンおよびRNAの消失、肝臓内の胆管、動脈、門脈の変化、脾臓の解離、脾臓内出血、腎臓細尿管の変化などである。

海産魚では小腸上皮の壊死脱落を認めたが、淡水魚では見られなかった。

4) コハク酸脱水素酵素反応の影響は肝臓に認められ、肝臓機能の低下を意味している。

5) バルブ廃水中に含まれる毒性物質の性質は、酸および塩化第二鉄のような凝集沈澱剤によって除去される部分に含まれ、廃水中の樹脂状物質が廃水の毒性と酷似しているので、樹脂酸が毒性物質の一つであると結論される。

6) 上記の結果から、バルブ廃水の魚類に及ぼす影響は、低濃度では鰓の粘液分泌昂進による呼吸機能の低下に起因する窒息症状、グリコーゲン、RNAの減少による活力の低下となって現われ、高濃度では廃水中の毒性物質による体内主要器官の病変となって現われている。

## 第四章 貝類に対する影響の評価

貝類の生理作用に対する廃水の影響の現われ方も魚類の場合とほぼ同様であって、廃水の種類あるいはその濃度によって相異が認められ、最も大きく影響が現われる弊止に始まって種々の影響の段階がある。

しかしながら、魚類が移動力を持っているのに反して、貝類は全くあるいは殆んど移動力を持たず、固定された地点においてその一生を終るといふ生態的な性質の大きな相異から魚類には見られない性格を持っている。魚類あるいは貝類の生理作用に甚大な影響を与えるような廃水が存在しても、移動力を持つ魚類は逃避によってその影響をのがれることも可能であるが、貝類では直ちに影響となって現われてくる。したがって、貝類における生理作用への廃水の影響の評価は重要な意義を持つものである。

また、貝類を対象とした水産業は主として集約的な経営である養殖業であって、養殖業の本質は一定の期間内に最大の収穫を得ることである。これには種々の観点があるが、個体の成長の良否はこの産業の成否を決定するものであり、ここにもまた生理学的影響の評価の意義がある。このような見地から貝類に対する影響の評価を試みた。

### 1 貝類の代謝機構の基礎としてのカルシウム代謝におよぼす影響

#### 緒言

貝類のカルシウム代謝はその成長を支配する要因として高く評価されなければならない。

貝類の個体の成長状況は同一の殻の大きさのものが必ずしも同一の肉重量を持つものではなく、貝類の成長に対する条件として、カルシウム吸収がそのすべてを表現するものではないが、少なくともその成長を標示する最大の要因の一つとして評価され得るものである。したがって、カルシウムの代謝の消長は貝類成長の消長に連なるものであって、カルシウムの吸収量の相異を検討することは意義のあることである。

#### 研究方法

カルシウムは貝体内に多量に存在する元素の一つであって、また同時に貝類の生活環境である海水中にも多量に含まれているものである。したがって、その動向および推移を適確に把握するためには、ラジオアイソトープを用いて標識されたカルシウム化合物を用いてその動向を追跡する以外に方法はない。

そこで、本研究におけるカルシウム吸収の測定は、すべて  $\text{Ca}^{45}$  を用いて標識したカルシウム量を G-M 計数器によって測定した。

種々の実験によって  $\text{Ca}^{45}$  を吸収させた貝肉を貝殻から分離し、これを水洗して貝殻周囲に附着している  $\text{Ca}^{45}$  を含んだ海水を除去した後、濾紙を用いて附着している水分を除去し、次の操作によって分解、沈澱形成を行ないその放射能を測定した。

##### 1) 重量の測定

2) 分解：ケルダールフラスコ中において濃硝酸 2 cc および 30% 過酸化水素水 1 cc を加えて加熱、分解後ほぼ一定量に稀釈、質量が多く分解が完全に行なわれなかった場合には上記の濃硝酸および過酸化水素水を再度添加した。

3) 沈澱形成：分解液は強酸性を示すので、これをアンモニア水を用いて中和後塩酸を用いて微酸性としこれに carrier として 1%  $\text{CaCl}_2$  液 1 cc および飽和酢酸液 2 cc を加え、メチルレッドを指示薬として液が黄変するまでアンモニア水を加え沈澱を形成させた。 $\text{Ca}^{45}$  は低エネルギーの  $\beta$  線放射体であるため自己吸収による測定誤差が大きいため、carrier はできるだけ少量添加することにした。通常貝類は 0.2~0.3 mg/g 温重量のカルシウムを含んでいるが、carrier として 1%  $\text{CaCl}_2$  を 1 cc 入れると 3.6 mg のカルシウム量になり、この程度の carrier を加えておけば貝類中のカルシウム量に多少の個体による変動があっても測定値に影響しないと考えられる。

4) 濾過：沈澱を形成させた液に非イオン性界面活性剤 (Tween 80) の少量を加えて、新たに考案した 4

—1 図に示すような濾過装置を用いて放射能測定用試料皿上に置いた濾紙上に直接採取した。無機質のみの溶液からカルシウムを沈澱させると、稀酸カルシウムの微細な沈澱が浮遊し、濾過に際して器壁をはい上ってくるが界面活性剤の添加によってこれを防止した。

5) 乾燥放冷：乾燥は赤外線電球 (250W型) の照射によって行ない、乾燥後はデシケーター中にて放冷させた。

海水中に添加する  $\text{Ca}^{45}$  の量は  $20 \mu\text{c/L}$  とした。なお非放射性的の  $\text{Ca}$  は海水中にかなり多量に存在するので別個には加えなかった。したがって、比放射能に関しては明らかではなく、使用した海水によって相異があることも考えられるが、これに起因すると思われる影響は見られなかった。

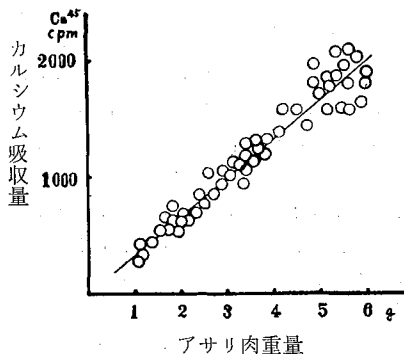
実験はアサリおよびマガキを用いて行ない、目的に応じて  $2 \text{ l}$  および  $10 \text{ l}$  容の円形ガラス水槽中で実施したが、いずれの場合も水槽を流水中に浸漬して、水温の急激な変化を防止するよう努めた。実験中の水温はアサリについては  $23 \sim 27^\circ \text{C}$ 、マガキについては  $12 \sim 15^\circ \text{C}$  で行なったが、一実験項目についての水温の較左は  $2^\circ \text{C}$  以上になることはなかった。

## 研究結果

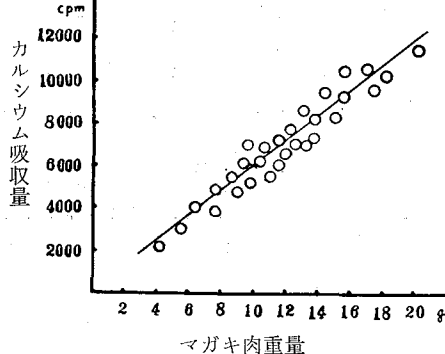
### 1) 貝肉重量とカルシウム吸収量の関係

アサリおよびマガキの各個体の一定条件下における  $\text{Ca}^{45}$  の吸収量で差異が認められたので、貝の肉重量とカルシウム吸収量の関係についての検討を行なった。実験は室内実験水槽の流水中で数日間予備飼育を行なったアサリおよびマガキを約  $20 \mu\text{c/L}$  の  $\text{Ca}^{45}$  を含む海水中に 8 時間飼育した大きさの異なるアサリ 60 個体およびマガキ 30 個体について湿肉重量と  $\text{Ca}^{54}$  の計数値を測定した結果を 4-2 図および 4-3 図に示す。

4-2 図 アサリの肉重量とカルシウム吸収量の関係



4-3 図 マガキの肉重量とカルシウム吸収量の関係



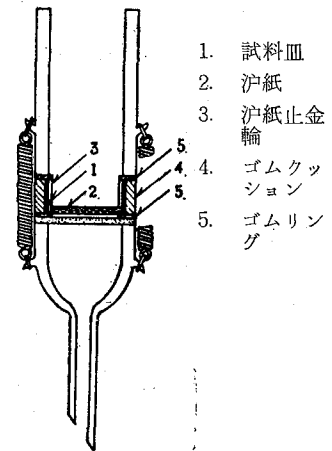
アサリおよびマガキ共に、この両者の間には極めて高度の相関関係があり、アサリでは相関係数  $r = 0.988$  およびマガキでは  $r = 0.958$  であり貝肉重量とカルシウム吸収量との間には両者共直線関係が認められることから、カルシウム吸収の比較検討に際して湿肉重量で  $1 \text{ g}$  当りのものについて行なうこととした。

### 2) 飼育時間とカルシウム吸収量の関係

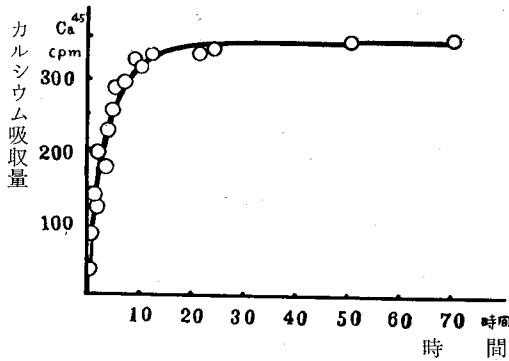
海水中にアサリおよびマガキを飼育した場合に、その海水中での経過時間とカルシウム吸収量の関係を知るために  $\text{Ca}^{45}$  を約  $20 \mu\text{c/L}$  に混じた海水中にアサリおよびマガキを飼育し、飼育時間を異にして取上げ、それらの吸収した  $\text{Ca}^{45}$  を測定し、肉量  $1 \text{ g}$  当りの計数値について比較した結果を 4-4 図および 4-5 図に示す。

これによるとアサリおよびマガキの両者共  $\text{Ca}^{45}$  の吸収は時間の経過と共に増加し、アサリでは約 12 時間の経過で、またマガキでは約 24 時間の経過で肉部の  $\text{Ca}^{45}$  は平衡に達するのが認められる。この結果から後述する各種の薬品および廃水の影響を評価する実験においては  $\text{Ca}^{45}$  が平衡に達するまでに至らない段階において

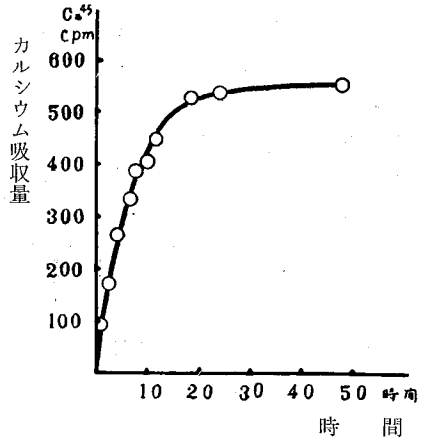
4-1 図 カルシウム沈澱濾過採取装置



4-4 図 アサリの飼育時間とカルシウム  
吸収量の関係



4-5 図 マガキの飼育時間とカルシウム  
吸収量の関係



比較を行なうのが至当と考え、実験の飼育時間を8時間と設定して実施した。

### 3) アサリおよびマガキの持つ自然計数

Ca<sup>45</sup>の吸収量をその放射能を測定することによって比較する場合に、貝の持つ自然計数が一つの問題点であり、特に最近放射性降下物による汚染が認められているので自然計数についての検討を試みたが、湿肉重量1g当りの自然計数はアサリで0.3cpm、マガキで0.8cpmであった。この程度であればこの種の実験に際しては自然計数を考慮する必要はないものとする。

### 4) 閉殻状態におけるカルシウムの吸収

貝類は一般に必ずしも常に開殻状態にあるとは限らず、殻の開閉運動を繰返しているのが通常である。

そこで閉殻の状態および開殻の状態におけるカルシウム吸収の差異について比較を行なった。比較は物理的な方法による開殻の状態と化学物質による閉殻の状態について検討を加えた。すなわち、無作為に選んだアサリおよびマガキを2群に分け、一群は無処理のもの、また一群は各個体それぞれの靱帯を切断して貝殻が開閉しないようにビニールテープによって縛り付けたものを作成して、約8μc/LのCa<sup>45</sup>を含む海水中に20時間飼育したものの計数値を4-1表に示す。ここで、この2群のものには明らかに差異が見られ無処理のものに比較して縛り付けたものは殆んどカルシウムの吸収は行なわれていない。一方化学薬品による閉殻の状態は、アサリおよびマガキを薬品を混入した中に入れると、その濃度が一定の限界を越えると貝殻を閉じてしまう性質を利用し、数種の異なる条件の海水中に飼育した結果を4-2表に示す。薬品はH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>およびCuSO<sub>4</sub>を用いて行ない、殻の開閉の状態はキモグラフを用いて確認した。これによると、この場合も正常な状態に置かれたものに比較して閉殻の状態にあるものはカルシウムの吸収が極めて少ないのが認められる。

4-1 表 縛り付けたアサリ  
貝のカルシウム吸収

正常状態		閉殻状態	
アサリ	マガキ	アサリ	マガキ
cpm/g 108	cpm/g 362	cpm/g 6	cpm/g 11

4-2 表 薬品により閉殻させた貝  
殻のカルシウム吸収

添加薬品	Ca <sup>45</sup> 吸収量 cpm/g		殻の状態
	アサリ	マガキ	
無添加	110	350	正常
(ppm) H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50	38	72	閉殻
80	38	68	〃
CuSO <sub>4</sub> 0.6	16	35	〃
1.0	8	13	〃

以上のように物理的あるいは化学的条件によって閉殻させた場合、いずれもカルシウム吸収は極度に減少するのが認められる。

5) 薬品および廃水のカルシウム吸収におよぼす影響

海水に数種の薬品および廃水をそれぞれ種々の濃度に混合したものを作り、これにアサリおよびマガキを入れて8時間飼育し、その吸収したCa<sup>45</sup>を測定し、比較を行なった。比較の方法は対照として用いた清浄海水中で飼育したアサリ45個本およびマガキ25

個体のCa<sup>45</sup>吸収の変動から無処理のもの棄却域を決定し、この域外に出た値を示したものを影響を受けたものとして検討を行なった。棄却域の決定は次の方法によった。すなわち、それぞれの実験において対照として用いた個体の湿量1g当りの計数値を $x_1, x_2, \dots, x_N$ とし、

$$\bar{x} = (x_1 + x_2 + \dots + x_N) / N$$

$$u^2 = \{(x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_N^2) - (x_1 + x_2 + \dots + x_N)^2 / N\} / (N - 1)$$

から、 $\bar{x} \pm u \{(N+1)F/N\}^{1/2}$ の範囲に入る値のものを正常なものとして扱い、この域から逸脱するものを影響を受けたものとして扱った。ただし、 $F: n_1=1, n_2=N-1, \alpha=0.05$ である。

この式から正常なもの認められる限界は、

アサリ：350±72cpm/g-湿量

マガキ：556±88cpm/g-湿量

4-3表 貝のカルシウム吸収に対する影響濃度

	アサリ	マガキ
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	50ppm	39ppm
CuSO <sub>4</sub>	1.0(Cu)	1.0(Cu)
淡水	20%	14%
S P 廃水	175ppm	160ppm
K P 廃水	60	51

廃水濃度：COD値

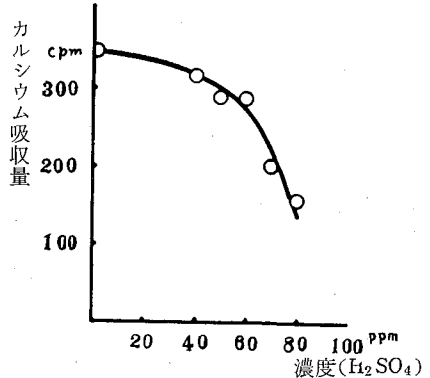
である。各種薬品および廃水についてその濃度とCa<sup>45</sup>吸収との関係は4-6図に示すようになり、いずれの場合も薬品および廃水の濃度の増加と共にカルシウム吸収量は減少しているのが認められる。

ここで各種薬品および廃水のアサリおよびマガキのカルシウム吸収におよぼす影響濃度を推定すると4-3表のようになる。これらの影響が貝体自身が影響を受けて生じた結果であるか、または貝殻の閉殻によって生じたものであるか、ここでは判然としていない。

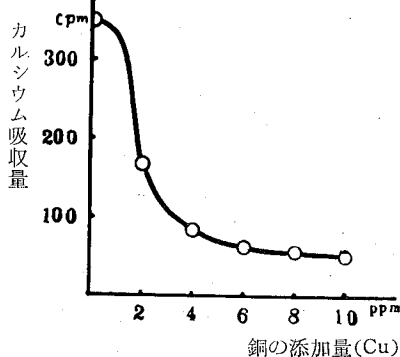
4-6図~4-10図

アサリのカルシウム吸収におよぼす各種薬品および廃水の影響

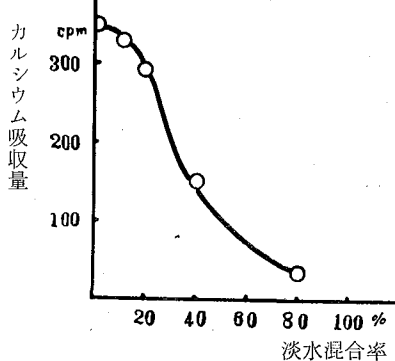
4-6図 酸の影響



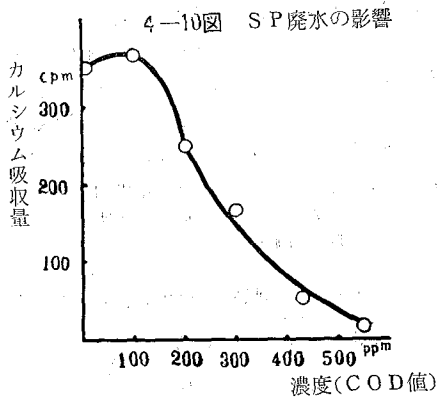
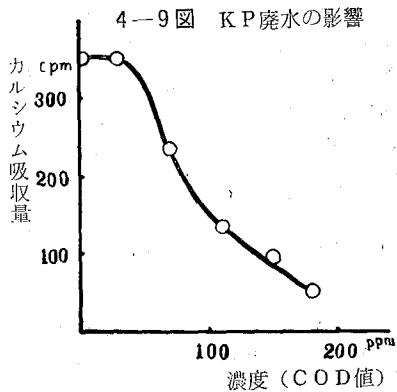
4-7図 銅の影響



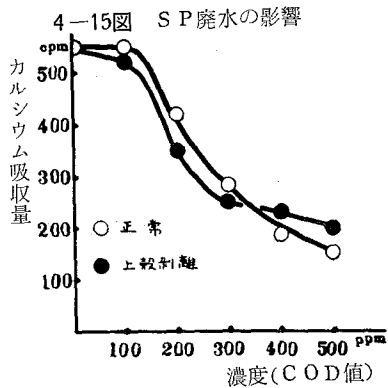
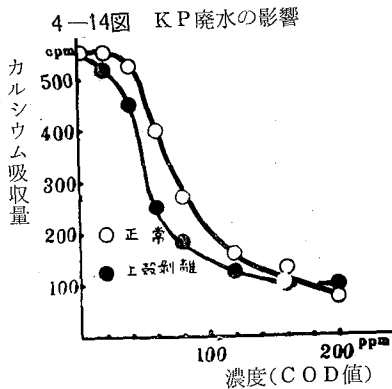
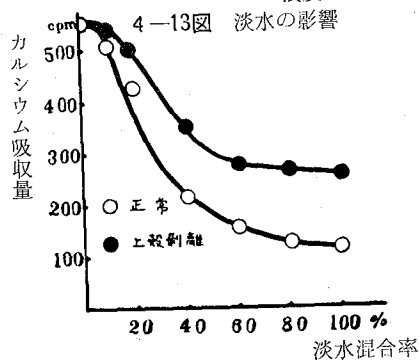
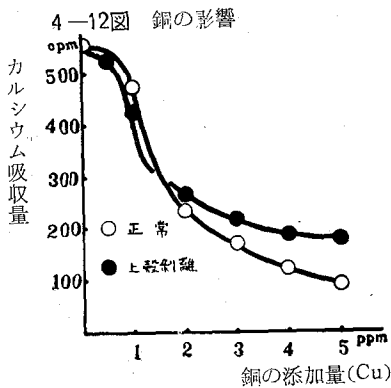
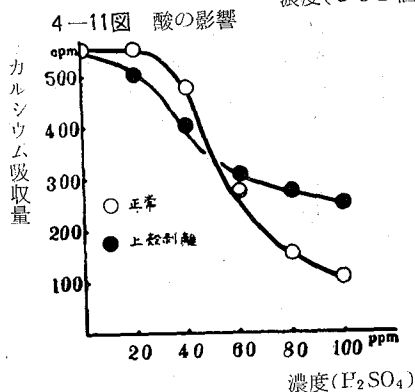
4-8図 淡水の影響







4-11 図 ~ 4-15 図  
マガキのカルシウム吸収におよぼす各種  
薬品および廃水の影響



6) 閉殻の影響を除いた場合の薬品および廃水の影響

貝のカルシウム吸収量はその殻の開閉に大きく関係している所から、閉殻の影響を除いた場合の廃水の影響を検討するためにマガキを用いてその上殻を剥離し貝体が直接廃水に接する状態における影響を検討した。両殻を持った正常な状態におけるマガキをCa<sup>45</sup>を20μc/Lの濃度に混入した清浄海水中に20時間飼育した場合のCa<sup>45</sup>の吸収量の比較を4-4表に示したが、これによると上殻を剥離して直接貝体が海水に接しているマ

4-4表 正常なマガキと上殻を剥離したマガキのカルシウム吸収の比較

	カルシウム吸収量 (cpm/g)	
	正常マガキ	上殻剥離マガキ
1	562	568
2	556	572
3	554	567
4	565	577
5	558	571
6	561	570
7	567	564
8	557	573
9	553	569
10	566	568
11	553	577
12	555	559
13	560	562
14	564	573
15	569	561
平均	560	569

マガキのCa<sup>45</sup>の吸収量は正常なものより若干高いのが認められるが、両者の間には有意な差はなく、したがって上殻を剥離したマガキのカルシウム吸収作用は正常な状態で行なわれているものと見てよい。

このような結果にしたがって、各種薬品および廃水中におけるCa<sup>45</sup>吸収量の変化を測定した結果を4-11図～4-15図に示す。これらの結果において、マガキの上殻を剥離して閉殻の影響を除いた場合においても薬品および廃水の濃度の増加と共にカルシウム吸収量は減少しており、その減少の度合は両殻を持った正常なものの場合よりも多少大きいような傾向である。

7) 正常なマガキおよび上殻を剥離したマガキを薬品および廃水中で飼育した後のカルシウム吸収量の変化

両殻を持ったマガキおよび上殻を剥離したマガキの間には薬品および廃水を混じた水中でのカルシウム吸収量にあまり大きな差異が認められなかった。そこで、両者を薬品および廃水中において飼育した後、清浄海水中に移した場合のカルシウム吸収量の比較を行なった。

マガキを両殻を持った正常な状態のものと、上殻を剥離して直接外囲の海水に貝体が接するようにしたものとの2群に分け種々の濃度に薬品および廃水を混合した海水中に24時間飼育した後、それらをCa<sup>45</sup>を20μc/L含む清浄海水中に20時間飼育してCa<sup>45</sup>の吸収量を測定した結果を4-16図～4-20図に示す。

ここで、両殻を持った正常な状態におけるマガキのCa<sup>45</sup>の吸収量は、薬品および廃水の濃度が増加してもほとんど変化が見られず、若干の増加が大部分のものに見られるのに反し、上殻を剥離して貝体が直接外囲の海水に接するようにした場合のものでは高濃度に薬品および廃水を混じた水中に飼育した場合Ca<sup>45</sup>の吸収量が減少した。これらの結果から、両殻を持った正常な状態のマガキは、短時間内では薬品および廃水によって貝体自身にはカルシウムの吸収能力を阻害されるような影響は生じていないのに反して、上殻を剥離したマガキの貝体にはカルシウム吸収能力を減少する影響が残るものと解される。

ここで、少数の例ではあるがクラフトバルブ廃水のC.O.

D. 値で100ppmの濃度の海水中に96時間飼育した後にCa<sup>45</sup>を含む清浄海水中に移した場合のCa<sup>45</sup>の吸収量を求めた結果を4-5表に示すが、長時間の飼育においては両殻を持ったものについてもカルシウム吸収量は廃水によって影響された。

4-5表 長時間廃水混合海水中に飼育後清浄海水中におけるCa<sup>45</sup>の吸収量

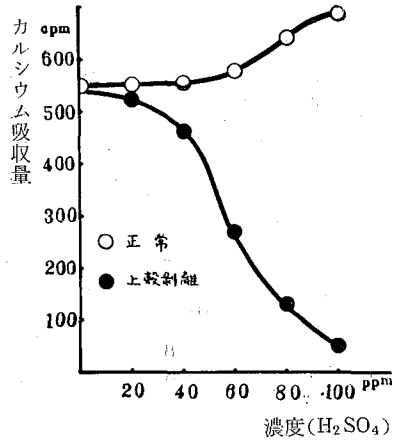
番号	正常マガキ	上殻剥離マガキ
対 照	528cpm	552cpm
1	137	0(斃死)
2	181	0(〃〃)
3	162	0(〃〃)
平均	160	0

飼育廃水濃度100ppm (C. O. D. 値)

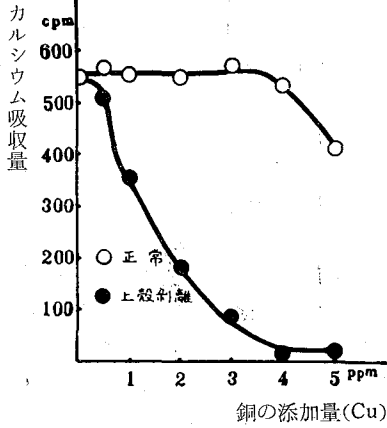
4-16図～4-20図

正常なマガキおよび上殻を剥離したマガキを薬品および廃水中で飼育した後のカルシウム吸収量の変化

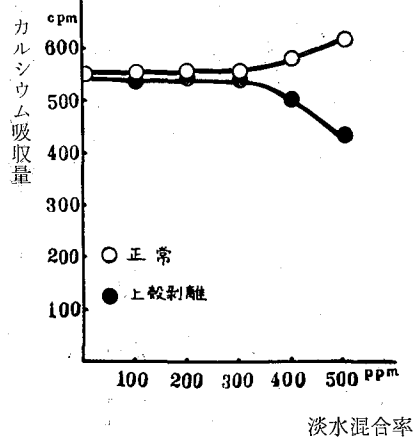
4-16図 酸の影響



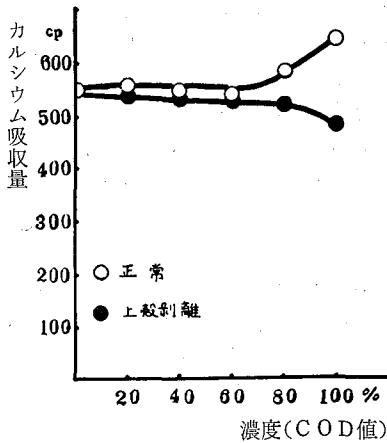
4-17図 銅の影響



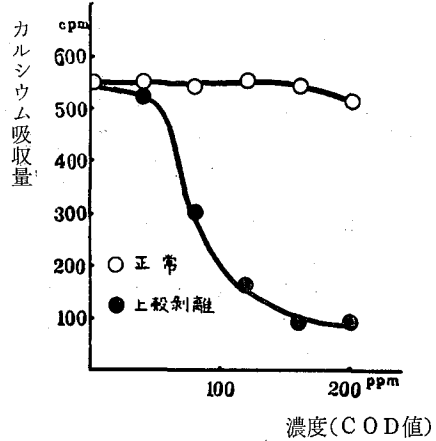
4-18図 淡水の影響



4-19図 SP廃水の影響



4-20図 KP廃水の影響



## 2 貝類の生体内脱水素酵素反応におよぼす影響

### 緒 言

生体内における脱水素酵素反応が細胞呼吸に大きく関与しており、脱水素酵素が細胞内のミトコンドリア中に含まれていることはすでに魚類についての項目において述べた。貝類の細胞呼吸は魚類の場合とその生活現象および生理作用の上で果す役割に差異がある。

すなわち、貝類の循環系は開放型であって、循環系の末端において血液は細胞の間隙を通過して、その間に酸素および栄養代謝質の補給、および老廃物の廃泄が行なわれる。したがって、各細胞における細胞呼吸は生理作用上特に主要なものであって、貝類の生活現象の基礎となっている。このような見地から、具体的に脱水素酵素反応に対する影響の検討を行なった。

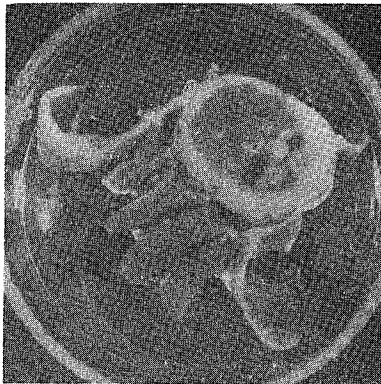
### 研究 方法

魚類の主要器官に対する研究方法と同様の方法にしたがって、マガキのコハク酸脱水素酵素反応を吟味した。

### 研究 結果

マガキの体内各部位におけるコハク酸脱水素酵素の分布状態を検討するために、マガキの貝体を厚さ約0.5 cmの横断切片とし、Seligmanの方法にしたがってコハク酸脱水素酵素を検出した結果を4—21図に示す。

4—21図 貝体内におけるコハク酸脱水素酵素分布



マガキの貝体内におけるコハク酸脱水素酵素の分布は貝体のすべての部分に存在しており、特に鰓および消化盲嚢を含めた消化器系に多く分布している。

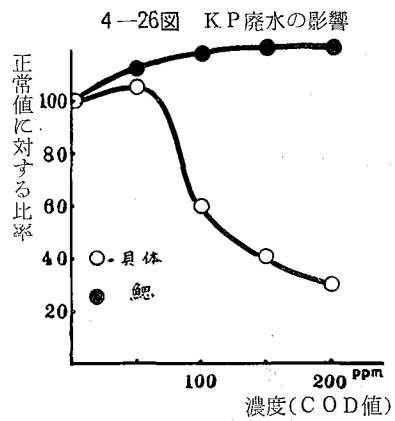
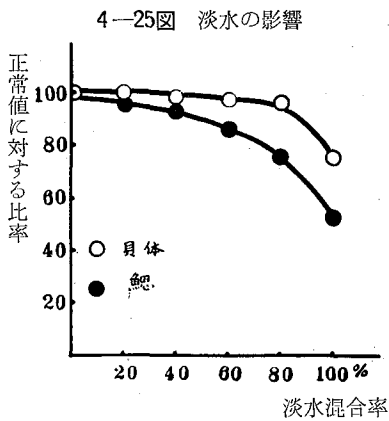
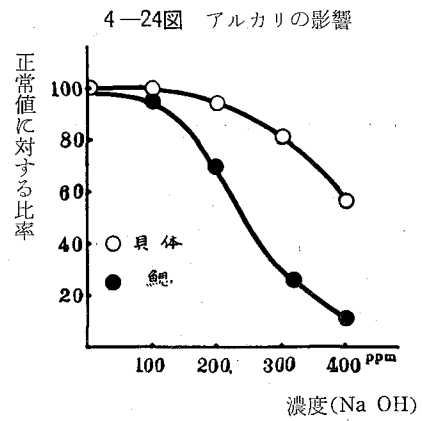
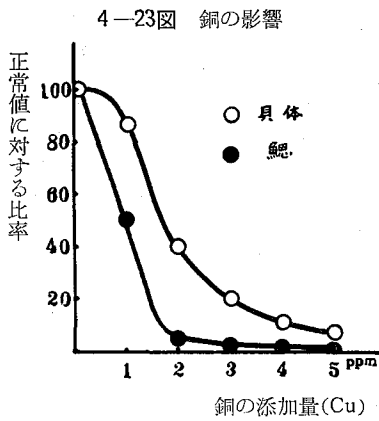
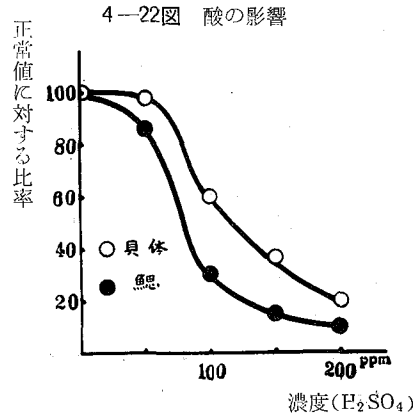
したがって、鰓および消化器官は他の部分と比較して細胞呼吸能力が大きいものと推察される。薬品および廃水の影響の検討に当っては、鰓および貝体について実験を行なった。すなわち、薬品および廃水の影響の現われ方は内臓諸器官を含んだ部分と鰓とで差異があるものと考えられる。鰓に対する影響は外囲の環境条件が直接関係しているであろうし、また内臓諸器官を含んだ部分に対しては直接的影響によって生じた二次的要素が関連してくるものと考えてこの二つの部位について別個に検討を行なった。

数種の薬品および廃水による内臓諸器官を含んだ貝体部分および鰓のコハク酸脱水素酵素反応の測定結果を4—22図～

4—26図に示す。これらの結果において、脱水素酵素反応の割合は薬品および廃水の濃度の増加と共に減少して行くのが見られる。コハク酸脱水素酵素は前述のように細胞呼吸に大きく関与しているものであるから、これらの薬品および廃水によって細胞呼吸に影響が生じているものと解される。また、鰓と貝体との比較では、鰓の受ける影響が特に急激であるのが見られる。ここでバルブ廃水中において飼育したものの試料で測定値に不安定な変動が見られた。内臓諸器官を含んだ貝体部分では洗滌することによってその不安定さを除去することができたが、鰓の部分については除去することができなかった。これは試料に付着したバルブ廃水中の有機物の還元による測定値の変動と想像され、洗滌によって鰓の試料からこの影響を除去することができないのは試料の構造上の差異によるものであろう。また銅を用いた場合においても測定値に変動が見られたので、バルブ廃水と銅についての吟味を行なった。すなわち、マガキの正常な貝体をホモジナイズしたものを指薬と共に試験管にとり、これを3群に分け、1群は対照として無処理、1群には0.1ppmの濃度に硫酸銅を、1群には少量のバルブ廃水を添加し、またこれらと同時にバルブ廃水を試薬と共に試験管にとったものについて比較を行なった結果を4—6表に示す。

この結果から、硫酸銅を添加したものには反応が見られず、このような物質によって検出反応が阻害され

4-22図 ~ 4-26図  
 マガキのコハク酸脱水素酵素反応におよ  
 ぼす薬品および廃水の影響



4-6表 脱水素酵素反応に対する妨害の状態

実験番号	反 応 の 状 態			
	対 照	硫酸銅 添 加	バルブ 廃水添加	バルブ 廃 水
1	+	-	+	+
2	+	-	+	+
3	+	-	+	+
4	+	-	+	+
5	+	-	+	+

4-7表 マガキの脱水素酵素反応におよぼす薬品および廃水の影響濃度

	影 響 濃 度	
	總	貝 体
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	60ppm	80ppm
NaOH	150	300
CuSO <sub>4</sub>	不 明	1.0
淡 水	70%	90%
K P 廃水	不 明	80ppm

廃水濃度：COD値

ているものと推察される。また、バルブ廃水を添加したものでは対照と比較して反応が促進されているのはバルブ廃水の持つ還元力によるものと想像される。

したがって、本研究において見られた銅による影響の場合の反応の急激な減少は試料に付着した少量の銅による反応阻害によって生じた現象であり、生体内の脱水素酵素反応の減少を示すものではないであろう。

このような結果から、廃水および薬品のマガキの脱水素酵素反応におよぼす影響濃度は4-7表に示したようなものと推定される。

### 3 貝類の主要器官におよぼす病理組織学および細胞化学的影響

#### 緒 言

貝類は魚類に比較して簡単な体構造を持ち、器官の分化も進んでいない。しかしながら、廃水の貝類に対する影響を評価するに当たっては、その生理作用に重要な役割を果している体内諸器官に対する影響を検討することによって、それら諸器官の生理機能への影響を知ることができる。

研究の対象としてはマガキを用いた。マガキは集約的企業形態の水産業の中で、貝類では最も進歩したものであり、水産業上特に有用であるので選定した。また、マガキは弁鰓類の一種として、水産業の対象となっている貝類の大部分を占めるこの種類の性格をある程度代表するものと考えた。弁鰓類、すなわち二枚貝に属する種類は数多く、その形態および生態的な特性は種類によって差異があるが、その生理作用の基礎的性格には大きな差異はないものと考えた。

#### 研 究 方 法

実験はすべて屋内飼育水槽における飼育実験によって実施し、バルブ廃水をそれぞれ実験の項目にしたがって混じた海水中に飼育した。水槽は200ℓ容のコンクリート製水槽を用い、廃水による影響以外の環境条件は可能な限りカキの生育に不適当な条件にならないよう留意した。

各実験条件にしたがって飼育したマガキを横に厚さ約0.5cmに輪切りにしたものをカルノア氏液を用いて固定、常法にしたがってパラフィン包埋したものをユング型マイクロームを用いて5~7μの標本切片を製作して、それぞれの目的に応じて染色、検鏡観察を行なった。病理組織学的検討の目的のためには主として「ヘマトキシリン・エオシン染色」を、細胞化学的検討の目的のためには、多糖類の分布および消長については「McManus-Lillie の過ヨード酸 Schiff 反応」を、RNA および DNA の分布および消長については Kurnick の「ピロニン・メチルグリーン染色」を実施した。

#### 研 究 結 果

研究結果を述べる前にマガキの主要器官の一般的な特徴について述べ、そのら性状に対する廃水の影響についての結果を述べる。

##### 主要器官の一般的な特徴

胃：貝体中央部後側に位置する袋状の器官であり、前は食道に、後は腸に連らなる。胃の上皮は一層の細長い細胞からなり、絨毛を有し核はほぼ細胞の中央にあって顕著である。上皮には盞状細胞様の粘液腺が所々に散在しており、その個々のものは顕著であるが数はあまり多くない。胃上皮の粘液はあまり顕著ではないが、ピロニン好性物質すなわちRNAはかなり多い。

腸：横断面は「山」字状の大きな褶を持ち、胃に連らなって存在する。この上皮細胞は胃と同様に絨毛を持ち、盞状細胞様の粘液腺が諸所に見られ、顕著であり数も胃に比較して多い。腸を取囲むものは結合織であり、魚類その他の高等動物に見られるような環状筋などは見られない。上皮には粘液が比較的多く、胃と同様にRNAが多く分布している。

消化盲囊：胃を取囲む大きな器官であって、導管によって胃に連らなる。この器官は機能的には食物吸収の役割を果すもので、貝類の体内器官として重要な地位を占めている。構造的には多数の細管からなり、相互に連続しているが、各細管の後端は盲囊になっている。この細管を構成する細胞は染色状態および細胞性状からみて二種類に区別できる。細胞は多糖類を持ち、また非常に多量のRNAを保有している。

この細管を取囲む組織には筋内繊維のようなものは存在しない。

体周固結合織：胃・腸・消化盲囊その他の主要器官を取囲み、多糖類に富みまた少量のRNAを保有している。

鰓：鰓は良く発達しており、二対よりなる。各々の鰓は内外二葉、すなわち内鰓葉と外鰓葉よりなり、各鰓葉は多数の鰓糸よりなる。鰓糸は一層の細胞よりなり内部は腔状の鰓糸間隙を形成している。鰓は粘液に富み、また若干のRNAを保有するがあまり顕著ではない。鰓糸の間には多数の血球を持ち、血球はピロニン好性物質を保有する。したがって、ピロニン・メチルグリン染色によって良く染色されるが、その大部分は血球であり、鰓糸細胞自身は顕著ではない。

バルブ廃水による変化

クラフトバルブ廃水を用いて、C. O. D値5, 10, 25, 50および100ppmの濃度の廃水混合海水を調整して、その中でマガキを6, 12, 24, 48, 96時間および7日間飼育したものの体内主要器官に見られた変化を4-8表(I), (II)および図版XVI-XXVに示す。マガキに見られる変化は飼育時間および廃水濃度の増加と共に著しくなっていくのが見られ、本研究における最終的な条件である廃水濃度100ppm(C.

4-8表(I) KP 廃水中に飼育されたカキに見られた変化 (I)

	飼育時間 飼育層+濃度	対照	6 時間					12 時間					24 時間				
			5	10	25	50	100	5	10	25	50	100	5	10	25	50	100
胃	リ核酸の減少																
	粘液分泌の昂進																
	上皮組織壊死																
	上皮細胞の脱落																
腸	リ核酸の減少																
	粘液分泌の昂進																
	上皮組織壊死																
	上皮細胞の脱落																
消化盲囊	リ核酸の減少																
	周囲結合織の減少																
	解離																
	空胞化																
体周固結合織	リ核酸の減少																
	粘液分泌の昂進																
	解離																
	移行性変化																
鰓	リ核酸の減少																
	壊死脱落																
	粘液分泌の昂進																
	解離																

廃水濃度 ppm (C. O. D値)

4-8表(II) KP 廢水中に飼育されたカキに見られた変化(II)

	飼育時間 飼育廢水濃度	対照	48時間					96時間					7日					
			5	10	25	50	100	5	10	25	50	100	5	10	25	50	100	
胃	リ核酸の減少																	
	粘液分泌昂進																	
	上皮組織壊死																	
	上皮絨毛の脱落																	
腸	リ核酸の減少																	
	粘液分泌昂進																	
	上皮組織壊死																	
	上皮絨毛の脱落																	
消化盲囊	リ核酸の減少																	
	周圍結合織の減少																	
	解離																	
体周圍結合織	リ核酸の減少																	
	粘液分泌昂進																	
	解離																	
	空胞化																	
鰓	リ核酸の減少																	
	壊死脱落																	
	粘液分泌昂進																	

廢水濃度: ppm (COD値)

O. D値) の中で7日間飼育したものには多くの著るしい変化が見られる。

それらの変化について述べると:

胃: 上皮細胞の絨毛の脱落が顕著であり、一部に上皮細胞の壊死脱落が見られ上皮層の全域に亘って粘液の分泌が昂進し、一部に剥離が見られる。また、上皮細胞の保有するRNAは減少している。(図版XIII~XIV)

腸: 症状の程度は胃と同様であって、上皮細胞の持つ絨毛の脱落、上皮細胞の壊死脱落があり、粘液の分泌は昂進している。また、保有するRNAには減少が見られる。(図版XV)

消化盲囊: 最も特徴的なものは盲囊の拡張であり、これは盲囊細管を形成する細胞の退行性変化と見ることが出来る。また盲囊細管の解離は細胞の壊死脱落を伴っておりその症状は著るしいものがある。消化盲囊内に多量に保有されているRNAの減少は著るしく、また多糖類は全消失に近い状態であった。(図版XVI~XVII)

体周圍結合織: 最も顕著に認められる症状は、体周圍外側に近い部位における粘液の分泌昂進である。また、結合織の解離および一部の細胞に空胞化が見られる外、一種の退行性変化と見られる組織の変性が観察された。結合織の保有するRNAは正常のものについてもあまり多くないが、バルブ廢水中で影響を受けたものは全消失に近い。(図版XIX)

鰓: 鰓糸組織の解離および細胞の壊死脱落が顕著であり、粘液の分泌昂進も著るしい。細胞の保有するRNAは全消失に近い。(図版XX~XXII)

最終的にはこのような著るしい変化が認められるが、これらの変化は飼育条件の悪化と共に増大している傾向にあり、6時間、12時間および24時間の比較的短い時間では病理組織学的な変化はほとんど見られず、主として細胞化学的な変化が見られるが、その程度も顕著ではない。殊に低濃度の廢水中では全く変化が見られていない。高濃度の廢水中における24時間および48時間以上の飼育では変化は著るしくなり、最終的に見られる各主要器官の著るしい変化は、条件の悪化に伴って重症化して行くところから、すべて廢水の影響によって生じたものと見ることが出来る。これらの結果はいずれも正常な形のマガキについて行なったものである。しかし、貝類の特性として周囲の棲息環境の悪化にしたがって貝殻を閉じ、周囲の悪条件に対処す



る性質があるので、この閉殻現象の生理学的な意義を検討するために、貝の上殻を剥離して貝体を直接海水に触れさせたものについての変化を検討した。飼育の条件は正常な形の貝と同様であり、その結果を4—9表に示す。

4—9表 上殻を剥離して飼育されたカキに見られた変化

	飼育時間 飼育海水濃度	対照	6時間					12時間					24時間					
			5	10	25	50	100	5	10	25	50	100	5	10	25	50	100	
胃	リノレン酸の減少																	
	粘液分泌の昂進																	
	上皮組織の壊死																	
腸	リノレン酸の減少																	
	粘液分泌の昂進																	
	上皮組織の壊死																	
消化盲囊	リノレン酸の減少																	
	周囲結合織の減少																	
	解離																	
体回結合織	リノレン酸の減少																	
	粘液分泌の昂進																	
	解離																	
	空胞化																	
鰓	リノレン酸の減少																	
	壊死・脱落																	
	粘液分泌の昂進																	
	解離																	

廃水濃度: ppm(COD値)

上殻を剥離した貝体に見られる変化は正常な形のものの場合と同様であって、正常な形のものに比較して見られた症状が著しい。すなわち、正常な形のものでは6時間、12時間および24時間の比較的短時間では著しい変化がほとんど見られないのに反し、上殻を剥離したものではその変化は顕著であり、上殻を剥離したものの6時間飼育によって見られる変化の状態は正常な形のもの24時間飼育の症状よりも著しい。また、上殻を剥離したものの24時間飼育の症状は、正常なもの7日間飼育の症状に匹敵している。したがって、外囲の悪条件に対する対応として貝殻の存在は重要な要素になっているといえる。

#### 4 論 議

貝類のカルシウム吸収について、辻井他<sup>124)</sup>はアコヤガイを用いてカルシウムの代謝機構に関して研究を行ない、貝類の成育にとって重要な要素であることを報告している。また、貝体内に吸収されたカルシウムは主として貝殻に移行することを述べており、これと同様の現象がマガキにも現われていると想像される。

したがって、本研究において見られた飼育時間とカルシウム吸収の関係の、一定時間後貝体内カルシウム量が平衡に達する現象は、カルシウム吸収の停止を示すものではなく、カルシウム吸収は続けられているが、吸収された量だけ貝殻に移行しているために生じている現象であろう。それ故に、Ca<sup>45</sup>の吸収量が平衡に達した時間においてカルシウム吸収の比較を行なうことは、実際には吸収量に変化が生じても見掛上のCa<sup>45</sup>の吸収量にはその変化が表現されない恐れがあり、本研究において実験条件を設定したように、平衡に達しない時間内において比較を行なうのが妥当である。

貝類のカルシウム吸収は貝の殻の開閉の状態によって異なることが明らかとなった。これは閉殻によって貝体内への水の流通が阻げられることによるものであって、貝体の持つカルシウム吸収機構に変化が生じたためとは考えられない。貝の閉殻によって生ずる現象はカルシウム吸収の減少のみでなく、他の条件すなわち呼吸、摂餌および排泄などの諸作用にも大きく影響しているものと推察される。したがって、閉殻状態に

において貝体の生理作用は著るしく低下し、殆んど停止に近い状態になっているものと想像され、これは成長不良あるいは斃死につながりを持つ現象であると推定される。その外、廃水による影響はこのような生態反応に対する影響の宿果から生ずるだけでなく、上殻を剥離して貝体が直接外阻の環境に接するようにしたのに見られるように、薬品および廃水中で飼育した後のカルシウム吸収量が減少する。

すなわち、両殻を持った正常な形のマガキと上殻を剥離したものを各種薬品および廃水を混合した海水中に20時間飼育した後、 $Ca^{45}$ を含む清浄海水中に飼育して $Ca^{45}$ の吸収量を比較した結果では、両殻を持ったものは薬品もしくは廃水を高濃度で混合した海水中で飼育されたもの程 $Ca^{45}$ の吸収量は多く、また低濃度のものでも吸収量が減少は見られないのに反して、上殻を剥離したものでは予め触れさせた海水中の薬品および廃水の濃度の着加と共に $Ca^{45}$ の吸収量は減少して行く。これは、両殻を持ったものは悪条件の海水中で閉殻の状態であったものが、清浄海水中に戻されたために正常な状態に戻り、しかも閉殻中の生理作用の低下による影響を回復させるために一時的に生理機能が昂進したためと想像される。また、上殻を剥離したものでは薬品および廃水を混合した海水中で貝体に影響を受けたために清浄海水中に戻しても $Ca^{45}$ の吸収量が減少したものと推察される。

したがって、両殻を持った正常な形のもの、上殻を剥離して貝体が海水に接するようにしたものとは薬品もしくは廃水を混合した海水中でのカルシウム吸収機構に差異があり、比較的短時間内に現われる貝体のカルシウム吸収量の変化は、貝の閉殻によるものであり、カルシウム吸収機能に異常が生じているためではない。このような結果から、貝類においては貝殻の存在は貝体を悪条件から保護する大きな役割を果している。しかし、廃水によってカルシウム吸収量が減少することは、いずれにしても貝類にとって好ましいことではない。

また、例数は少くないが、96時間クラフトバルブ廃水中に飼育した後、 $Ca^{45}$ を含む清浄海水中で飼育したものでは $Ca^{45}$ の吸収量が減少が見られる。したがって、貝殻による保護作用も長時間に亘っては行なうことができなないのであろう。このような結果から、薬品および廃水を混合した海水中における貝類のカルシウム吸収におよぼす影響は、短時間内では貝の閉殻による水の流通不良によるものであり、また長時間に亘る場合は貝体の生理機能の低下によるものであると理解される。貝体の生理作用には影響のおよんでいない閉殻現象によって生ずるカルシウム吸収作用への影響は、明らかに貝体を受ける廃水の間接的影響として考慮すべきである。

藤谷他<sup>23)</sup>は閉殻現象を判定の規準として貝殻に対する廃水の影響の判定方法を発表し、アサリについて各種の薬品および廃水の影響を求めた。この生態学的な判定方法によるアサリへの影響濃度と本研究においてカルシウム吸収量の変化から求めた影響濃度との対比を4—10表に示す。これによれば、両者の方法によって

4—10表 アサリに対する影響濃度の対比

	生態的判定	生理的判定
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	56ppm	50ppm
CuSO <sub>4</sub>	3.7(Cu)	1.0(Cu)
淡水	22%	20%
S P 廃水	138ppm	175ppm
K P 廃水	83	60

廃水濃度：COD値

求められた影響濃度は殆んど同様な数値であり、またカルシウムの吸収は閉殻によって著るしく減少される所から、閉殻を判定の基準とした判定方法は妥当な方法であり、このような生態学的な判定方法を通じて生理学的な影響をもある程度判定できるといえる。

一方、廃水の生体内脱水素酵素反応に対する影響はかなり著るしい。マガキについて試みた貝類の生体内コハク酸脱水素酵素反応はコイなどの肉部のそれと比べると

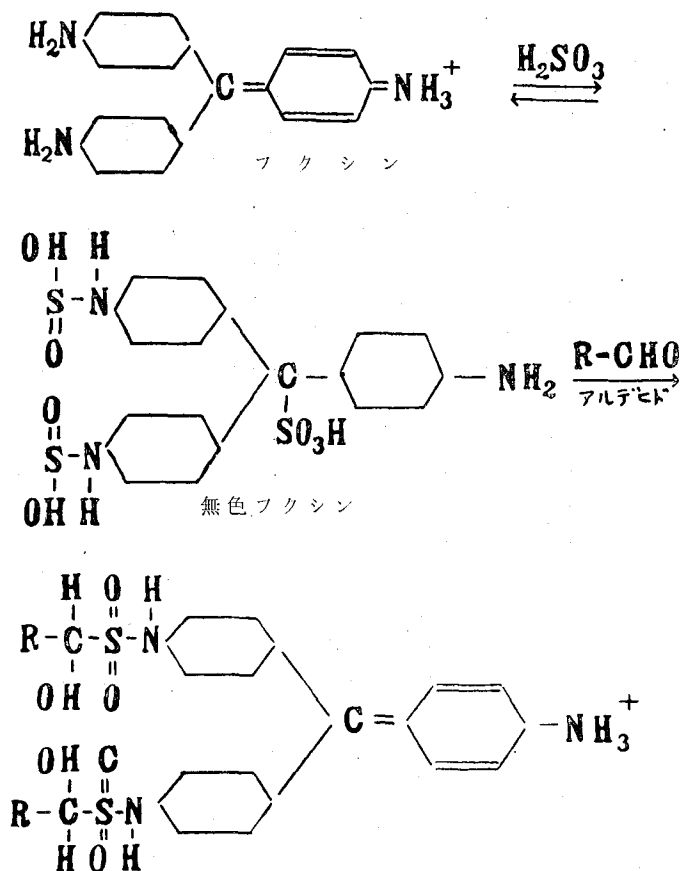
極めて高く、これは測定操作中における、T. T. C 呈色反応の肉眼的な比較においても判別できる。

貝類は魚類に比較して体内諸器官の分化が進んでおらず、しかも循環系が開放型であるような形態上の差異によるものと想像される。この反応が顕著であることは、生体内における脱水素酵素反応が貝類の生活にとって重要な役割を果していることを示すものと解される。したがって、廃水などによってこの反応が低下することは、貝類に対する廃水の影響が著るしいことを示しているといえる。鰓と貝体とに分けて廃水による脱水素酵素反応の変化を検討した結果は、銅およびバルブ廃水については供試物質による妨害によって鰓に対する影響は明らかではなかった。しかし、酸、アルカリ、淡水については、いずれも鰓は貝体よりも低

い濃度で影響が現われている。これは鰓と貝体の機能的な、また形態的な差異によるものであって、鰓は直接海水に接し、その量に対して表面積は貝体に比較して極めて広い。したがって、このような差異が影響濃度の差異となって現われているものと解される。このように、鰓と貝体では廃水による影響の本質に差異があり、いずれも廃水の影響を検討するに当って重要な意義を持っているが、廃水の種類によっては反応が不安定になる点、鰓は廃水の影響を検討する目的には不適當であり、貝体に対する影響によって表現するのが妥当である。

貝類に対する廃水の影響を検討するために、病理組織学および細胞化学的影響について観察を行なった結果、著るしい影響が貝体に与えられることが明らかとなった。細胞化学的な観察は多糖類、および核酸の分布、消長について行なった。

多糖類反応を貝体の切片に施した場合、その反応は極めて顕著である。したがって、貝体内には多くの多糖類が含まれているが、それらはすべて同一物であるとは考えられない。多糖類反応の理論はSchiff 試薬すなわち亜硫酸フクシンを使って過ヨード酸によって酸化し遊離したアルデヒド基と結合発色させるものであり、その過程は下記のようなものである。



すなわち、フクシンに亜硫酸を加えるとフクシンに見られるヒノイド発色団  $\text{C}_6\text{H}_4$  がスルホン基  $\text{C}_6\text{H}_4$ 、ベンゾール基となり、ヒノイド型に結合して無色となる。ここに多糖類を過ヨード酸で酸化することによって生じたアルデヒドが結合して赤色に発色する。

したがって、この反応によって発色される物質は数多く、Glick<sup>34)</sup>によれば動物組織ではグリコーゲン、ムチン、粘液蛋白、キチンなどが反応し、植物組織では澱粉、セルロース、ヘミセルロース、ペクチンなどが反応するといわれ、またPearse<sup>91)</sup>はグリコーゲンおよびリポイドを含む多糖類の外に粘液多糖類、粘液蛋白などが陽性であるといわれる。

市川<sup>48)</sup>は多くの研究者の業績を取まとめ、多糖類反応陽性物質として次のものをあげている。

1. -CHOH-CHOH-の反応基を持つ高分子炭水化物
2. -CHOH-CHNH-の基のある蛋白
3. グリコーゲン、澱粉、セルロース
4. 糖脂体、粘液多糖類、粘液蛋白、糖蛋白

貝類、特にマガキはグリコーゲンを比較的多く保有し、また体内各所に粘液腺が存在している。貝類に対する多糖類反応の結果を見ても、陽性物質は消化盲囊周囲結合織、体周囲結合織および消化盲囊に顕著である。多糖類の中でグリコーゲンは唾液消化試験によって確認できるが、この試験の結果消化盲囊周囲結合織内の陽性物質が約半減したのを認めた。

しかし、他の部位には著しい変化は見られなかった。この結果から貝体内におけるグリコーゲンの分布は主として消化盲囊周囲結合織に存在し、他の部位に存在する陽性物質は主として粘液蛋白および粘液多糖類その他と解される。

一方、核酸の分布消長はピロニン・メチルグリーン染色によって行なった。マガキの貝体内のピロニン好性物質の分布は極めて顕著であって、消化盲囊細管、消化管（胃・腸の上皮細胞）が特に著しく、鰓、体周囲結合織にも分布しており、また体内の随所および鰓にピロニン好性の小顆粒を認める。これらのピロニン好性物質は主としてRNAであることは Brachet の研究以来一般的になっているが、すべてがRNAではなく、例えば昆虫幼虫の鰓核、ヒドラ類の刺胞などはピロニン好性であるがRNAは含まれていないといわれ、またピロニンは低重合化したDNAにも結合する。したがって、貝体内におけるピロニン好性物質がどのようなものであるかについて現在まで明らかにされていない。しかし、貝類の生理的特性すなわち、経口的に体内に摂取された餌料は消化管内から消化盲囊に摂取される機構から、消化盲囊内のピロニン好性物質はRNAであると推察され、また消化管内のピロニン好性物質もRNAであろう。また、貝体内には多くの喰作用を有する変形細胞を持ち、高槻<sup>119)</sup>によればこの細胞は消化、排泄に大きく関与するものである。貝体内に多く認められるピロニン好性顆粒はこの変形細胞であって、この顆粒のものもRNAであろうと推察される。したがって、貝体内に存在するピロニン好性物質は、その殆んどがRNAであると解される。

バルブ廃水の病理組織学的および細胞化学的影響は、短時間の飼育では貝体各部における粘液の分泌昂進が最も早く現われ、特に鰓においてそれが著しい。次いで、グリコーゲン、RNAの減少が生じ順次体内各部位の病理組織学的変化の発生へと移行して行く。各主要器管の中で鰓は最も早く細胞の壊死脱落および解離の症状が現われている。バルブ廃水の影響によって貝体に現われる変化の中で最も特徴的なものは消化盲囊の変化であって、初めに消化盲囊細管の拡張となって症状が現われ、次いで解離、細胞の壊死脱落が見られる。なお、このような変化が生ずる前にRNAの減少が著しい。消化盲囊の性質およびRNAの分布状態から見て貝体における蛋白合成作用の大部分が消化盲囊において行なわれていると見ることができ、このような消化盲囊における一連の変化は蛋白合成障害が著しく現われているものと解される。体周囲結合織に見られる粘液の分泌昂進に始まり、順次解離、空胞化と移行している一連の変化は体表面からの毒性物質の侵入によるものと思われ、また消化管である胃・腸に見られる変化は毒性物質の消化管内侵入を推定することができる。消化管に連なる消化盲囊の変化が、拡張、解離と順次重症化して行くことは盲囊の内部から毒性物質の影響がおよぶことを示し、消化盲囊に対する影響は消化管を通じてひき起こされる傾向が強く見られる。したがって、貝類に対するバルブ廃水の影響は、廃水中の毒性物質によるもので、その体内侵入経路としては消化管を経由するものと、体表面から侵入するものと少なくとも二つの経路を考慮することができる。

このような変化を貝類に与える毒性物質について魚類の場合と同様に評価を行なった結果、凝集沈殿によって処理を行なった場合にはバルブ廃水の影響として見られた諸症状がいずれも認められなかった。また樹脂を混合した海水中に飼育したものに見られた諸症状は廃水を混合した海水中で見られた症状とほぼ同様であり、特に鰓に見られる変化は顕著であった。

したがって、貝類においてもその病理組織学的および細胞化学的性状に変化を与える廃水中の毒性物質は魚類の場合と同様に凝集沈殿によって除去される物質中に含まれ、樹脂成分が毒性物質として大きく関与していることが明らかに認められる。

このような結果から、バルブ廃水の貝類に対する影響は次のように評価することができる。バルブ廃水はカルシウム代謝機能を低下させるが、短時間内ではこのような影響を防ぐために貝殻の閉殻を行なって毒性物質の体内侵入を阻止するのが認められた。この閉殻現象が現われる結果、貝体と外環境とは遮断され、

すべての代謝作用の減退もしくは停止が生じ、結果的には貝体の成長を阻害する。長時間に亘る廃水中での棲息によっては、貝体内に廃水中の毒性物質が侵入し、各主要器管に変化が生ずる。特に消化盲嚢に対する影響は特徴的であり、盲嚢内のRNAの減少はかなり低濃度の廃水中に飼育した場合にも認められるので、成長に対する影響は極めて大きいものと推察される。

また、貝体における細胞呼吸が廃水によって大きく阻害されていることは、生理機能全般の低下を示すもので、貝の代謝作用は廃水の影響によって著しく低下するといえる。

多くの水産業上有用な貝類は養殖業の対照となっている関係から、廃水の影響に関しては極めて高い関心が払われており、また多くの貝類の養殖業は浅海において行なわれているので廃水の影響を受け易い。

多くの貝類に対するバルブ廃水の被害についての事例は、貝類の成長不良について述べられている。<sup>110)</sup>

本研究で明らかにされたように貝類は貝殻によって短時間内における突発的な事故のような高濃度の廃水の影響に対しては強い抵抗性を持つが、低濃度の濃水の波及であっても、それが持続的な条件であれば必ずしも強い抵抗性を持つとは認められない。したがって、貝類を対象とする場合の廃水の処置は、このような見地から考慮する必要がある。また、多くの生物試験法による廃水の影響の判定は比較的短時間の実施によって行なわれているが、貝類に関しては、その特性を考慮に入れ、長時間に亘る実験によって判定されなければならない。

#### 摘 要

1) バルブ工場廃水の貝類に及ぼす影響を評価するために、代謝機構の基礎としてのカルシウム代謝におよぼす影響、細胞呼吸におよぼす影響を評価するための脱水素酵素反応におよぼす影響、主要器管におよぼす影響を評価するための病理組織学および細胞化学的影響に関する研究を行なった。

2) バルブ廃水によってカルシウム代謝は著しく低下される。この低下は短時間内においては貝の閉殻による海水の貝体内流入の停止によって生ずるものである。したがって、カルシウム代謝のみでなく、他の栄養代謝もこのために阻害される筈である。

長時間においては代謝に関する生理機能が影響され、代謝作用の減退を生ずる。

3) 貝体内におけるコハク酸脱水素酵素反応はバルブ廃水によって大きく阻害される。これは貝体の細胞呼吸作用の低下を示すもので、その生理作用に大きな影響がおよんでいることを示すものである。

4) 主要器管に対する病理組織学および細胞化学的影響は、胃・腸・消化盲嚢・鰓および体周囲結合織に顕著であり、特に鰓および消化盲嚢の変化が大きい。

消化盲嚢内のRNAに著しい減少が見られるがこれは貝体の蛋白合成能の障害を意味する。貝体で見られる症状は廃水中の毒性物質によるものであって、その貝体への侵入経路として消化管を経由するものと、体表面からの侵入経路を考えることができる。貝体に対する廃水中の毒性物質も魚類に対する場合と同様に凝集鰓殻剤によって除去される物質であり、樹脂成分が大きく関与している。

5) 貝類は短時間内ではその貝殻の防禦作用によって、かなり高濃度の廃水の波及にも耐えうるが、低濃度のものでも長時間持続的な波及には抵抗性が弱い。したがって、廃水問題を考慮するに際しては、この特性を考慮に入れて処置すべきであり、また貝類に対する影響の生物学的判定は長時間に亘って行なうことが必要である。

## 第五章 藻類に対する影響の評価

本邦における水棲藻類の利用は特に著しいものがあり、水産業上有用とされている藻類の種類は極めて多く、しかもその性質は種類によって大きな差異があるために藻類に対する影響の全般的な評価を行なうことは至難である。しかしながら、藻類の中で最も良く利用されているのはアサクサノリである所から、本研究においてはアサクサノリに対する廃水の影響を検討した。アサクサノリはその生産量の殆んどすべてが集約的経営になる養殖業によって生産され、またその漁場は河口付近の沿岸地帯に存在するために産業廃水に関連した問題は非常に多い。それらの問題の主なもの、廃水による枯死、成長不良、細胞の抵抗力減少による病害の発生、製品の品質低下などであるが、その大部分の現象は生理作用に対する障害が原因となっているものが多いようである。

このような実情からアサクサノリに対する生理学的な検討は不可欠の要素であるにも拘わらずこの種の研究は殆んど行なわれていない。

このような見地から、本研究においてはアサクサノリの生理作用におよぼす廃水の影響を検討した。

### 1 藻類の栄養代謝機構の基礎としての磷吸収におよぼす影響

#### 緒言

磷化合物は窒素化合物と共に藻類の栄養代謝物質として重要な役割を果している。特に海藻類にとっては不可欠の要素であり、しばしば磷化合物が藻類成育の制限因子となっていることからその重要性をうかがうことができる。正常に成育している藻類は高度の磷吸収能力を持っているが、その代謝機構が外囲環境の害の条件によって異常が生ずることは藻類の成育、あるいは生存に重大な支障となる。このような見地から、藻類の生理作用におよぼす廃水の影響を検討するに当って磷吸収への影響は重要な要素であると考えられる。

#### 研究方法

研究は基礎研究を含めて各項目に亘り、項目毎に異なった方法によっているので、各項目における詳細はその都度述べることにし、ここでは全般を通じて共通する基本的なものについて述べる。

各実験項目共、直径18cmのガラス水槽を用い、これに各実験項目にしたがって種々の条件を与えた海水1.5ℓを入れてその中にノリを入れ、攪拌して適宜浮動を与えながら、40W白色蛍光灯を用いて80cmの距離から照射し同化作用を行なわせた。使用したノリは、養殖場から採取したものを室内水槽の流水中で培養しながら供試した。

磷の吸収量の比較は $P^{32}$ を混じた第一正磷酸カリを用い、その放射能を測定して行なった。

ノリに磷を吸収させる場合、細菌による影響を防ぐために、海水中に50mg/Lのクロルテトラサイクリンを混じた。 $P^{32}$ の測定に当っては、 $P^{32}$ を混じた磷を吸収させたノリを、60%過塩素酸により分解する湿式灰化法によって灰化し、これを一定容に稀釈したものから1ccを採り液状のままG-M計数器により測定した。海水中の $P^{32}$ の測定は海水1ccを採取して同じく液状のまま測定した。ノリの吸収した磷を測定する場合同化磷と貯蔵磷を分けて測定するために、灰化前試料をクロロフォルム飽和蒸溜水中に一定時間浸漬し、貯蔵磷を放出させる方法を用いた。なお、実験中の水温はすべて9~12°Cである。

研究は基礎研究および産業廃水の影響に関する研究とに分けて実施し、基礎研究においては主として産業廃水の影響に関する実験条件を検討するための予備実験を行なった。

#### 研究結果

##### 1) 基礎研究

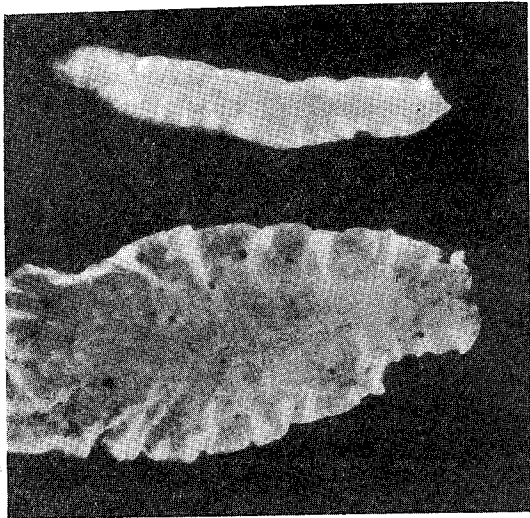
###### i) 吸収された磷の葉体上における分布

吸収された磷がノリの葉体上にどのように分布するかはこの種の研究を行なうに当って取るべき方法を大

きく左右するものである。すなわち、吸収された磷がノリの葉体上に一様に分布するものであれば一定量のノリによって吸収された磷の算術平均の比較を行なっても大きな支障はないであろうが、分布が一様でないとする単純に前記のような方法によることはできなくなり、またかなり複雑な実験方法上の問題が生ずる。したがって、吸収された磷の葉体上での分布を明確に把握することが第1の問題である。

磷酸塩に $P^{32}$ を混じたものをノリに吸収させると、ラジオオートグラフによって $P^{32}$ の分布を見ることができる。そこで、海水中に2 mg/Lの磷を混じた中に $P^{32}$ を比放射能が約 $2 \mu\text{c}/\text{mg}$ になるように混じ、この外硝酸態の窒素を28mg/L加えた中にノリを浸漬し、浮動を与えながら24時間照射しながら放置したものを取上げ、ケント紙上に拡げ乾燥した。これをレントゲン用フィルム上に密着して14日間露出させて得られたものを5-1図に示す。ここで見られる吸収磷の分布は葉体上にほぼ一様に分布している。

5-1図 ノリ葉体中の吸収磷の分布



図中の黒点は葉体上の穴。磷は白色となって見られる。縁部の明部は細胞層が二重になっている。

れているといわれている。松江は珪藻 *Skeletonema costatum* の培養種を用いて研究を行ない、磷の吸収機構を詳細に報告している。ノリについても同様な現象が存在すると考えられるが、貯蔵磷を除去した後に残る同化磷によって比較を行なった。

貯蔵磷の放出方法については、松江が種々の方法を検討しているが、この中でクロロフォルム混液を用いる方法がノリの場合適当である所から、この方法によって実施し、検討を行なった。すなわち、比放射能約

5-1表 蒸溜水およびクロロフォルム混液中における溶出磷・残存磷の比較

	溶出磷 ( $P_3^{32}$ cpm)	残存磷 ( $P^{32}$ cpm)
蒸溜水	3	994
	2	919
	2	1167
クロロフォルム飽和水	136	120
	148	107
	155	229

$2 \mu\text{c}/\text{mg}$ に $P^{32}$ を混じた磷酸塩を磷として2 mg/L混じた肥沃海水中にノリを5 g入れ、48時間浮動、照射を与えつつ磷を吸収させた後、これを500ccの蒸溜水のみのもので、蒸溜水にクロロフォルム2 ccを加えたものの中に24時間浸漬して、溶出した $P^{32}$ を5-1表に示す。

これによると、蒸溜水のみのもものでは殆んど磷の溶出が認められないのに反して、クロロフォルム混液中には $P^{32}$ の溶出がかなり見られる。この結果から、クロロフォルムの存在によって溶出する形の磷がノリにも存在することが認められ、貯蔵磷がノリにも存在することが認められた。

次いで、上記の方法と同様の方法によって磷を吸収させたノリを

#### ii) 試料の採取方法

ラジオオートグラフィの結果、吸収磷はほぼ葉体上に一様に分布していることが分かったので、実験に使用する試料は秤量によって一定量採取することとし、養殖場から採取して室内水槽の流水中で培養した。この中から取上げ、ガーゼに包み込み、軽くしぼったものを5 g採取して用いることとした。この場合、ノリの水分の相異によって試料の量に変動がある恐れがあるが、大体一様に毎回しぼって採取した湿量5 gのノリは、 $110^\circ\text{C}$ 、3時間の乾燥後の乾量で0.75~0.80 gであり、あまり大きな変動はなかった。

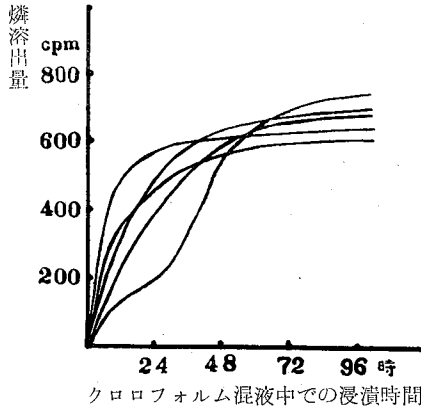
#### iii) 貯蔵磷について

##### a) 貯蔵磷の放出法

海藻の磷吸収機構の段階として、吸収された磷は二種の形で存在しているといわれ、その一種はノリの生活上必要な各種化合物に同化され、また他の一種は簡単な有機化合物として貯蔵さ

500ccのクロロフォルム混液中に浸漬して貯蔵磷の溶出の時間的变化を検討した。その結果では、クロロフォルム混液中の浸漬時間と混液中に溶出してくるP<sup>32</sup>の計数値との関係は5-2図のようになり、48時間を経ると殆んど溶出量に変化が見られなくなる。これは48時間の浸漬によって貯蔵磷の殆んどが放出されたことを示す。

5-2図 クロロフォルム混液中における吸収磷の溶出量



多い。

iv) ノリの磷吸収量

ノリの磷吸収におよぼす廃水の影響を研究するに当っては、磷吸収の相対的な比較を行なうことによって検討することが可能であるが、一般的にこの種の研究を行なうに当って吸収量の絶対量のある程度把握しておく必要があり、磷吸収量の測定を行なった。

実験は養殖場から採取したノリを室内水槽の流水中で培養したものをを用いているので、自然海域に棲息するものとは必ずしも同じ条件ではないが、磷吸収量の大概は把握できるものと考えられる。

測定方法は、磷酸塩中にP<sup>32</sup>を混じて、吸収された磷の量をP<sup>32</sup>の計数値から測定する方法によった。

ガラス水槽中にP<sup>32</sup>の適量を混じた磷酸塩を種々の濃度に正確に混入した海水を入れ、この中に湿量5gのノリを入れて磷を吸収させる。一定時間後海水中のP<sup>32</sup>を測定すると、磷濃度の低いものでは海水中の磷が完全に吸収されて残存しないものができる。この場合海水中に添加した磷は完全にノリに吸収されているので、海水中に混じた既知量の磷はノリの中に移行したことになる。そこで、このノリを分解、稀釈後その一定量を採取してこの中のP<sup>32</sup>を測定すると、その計数値とノリ中の磷量の関係を知ることができこの計数値から吸収した磷量を求めることができる。このような方法によって行なった実験結果を5-3表に示す。

これによると、湿量5g(乾量0.57g)のノリが24時間に吸収する磷の量は、海水中の溶存磷量によって異なるが、吸収した全磷については海水中の磷の増加と共に増大しており、同化磷は海水中の磷の量が1.25mg/L以上になるとほぼ一定になるのが見られ、その量は乾量1g当り60~70γである。

v) 海水の磷溶存量とノリの吸収量との関係

海水中に溶存している磷の量とノリの吸収量との関係は、実験を行なう際に海水中の磷量をどの程度にして実験を行なうかなどの条件を決定するために必要なことである。産業廃水による影響のような環境条件の変化に対する磷吸収の変化を比較しようとする場合、海水中の磷量の多少による影響などが生じないような条件を設定しておく必要がある。そこで、磷溶存量の異なった種々の海水を調製し、その中に湿量5gのノリを入れ24時間吸収させた結果を5-3図に示す。

この結果から、貯蔵磷の放出方法としてクロロフォルム混液を用い、その中での浸漬時間を可能な限り長時間とするのが好ましいと考え、96時間浸漬して貯蔵磷を放出させた後のノリについて検討することとした。

b) 同化磷と貯蔵磷の比率

比放射能2μc/mgの磷酸塩を磷として2cc/L含む肥沃海水中に湿量10gのノリを48時間培養し、このうち5gについては貯蔵磷を放出させたノリのP<sup>23</sup>を測定し、残り5gは貯蔵磷を含んだままP<sup>32</sup>を測定した。

その結果を5-2表に示す。この結果から見ると48時間内にノリが吸収した磷の中、僅かに6.5%が同化されているに過ぎず、貯蔵磷として保有するものが同化磷に比べて非常に多い。

5-2表 全吸収磷と同化磷の比率

番号	全吸収磷	同化磷	比率
1	1034	60	.056
2	1041	66	.063
3	1057	65	.062
4	1060	75	.070
5	1067	76	.071
6	1144	75	.065
		平均:	.065

単位: cpm P<sup>32</sup>

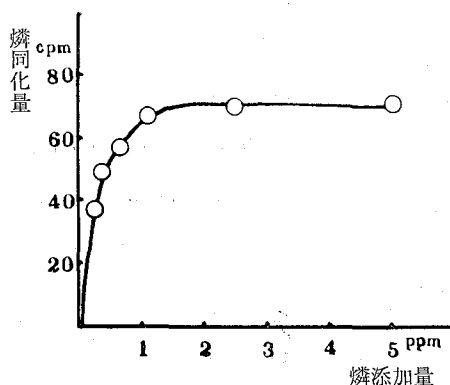


5-3表 ノリの磷吸収量と海水中の溶存量との関係(24時間内)

A*	B	C	D	E	F	G	H
添加磷量	溶存磷量	実験前の放射能	実験後の放射能	全吸収放射能	同化放射能	乾量1g当りの吸収磷	乾量1g当りの同化磷
mg	mg/L	cpn/cc	cpm/cc	cpm	cpm	mg	mg
0.24	0.16	24	0	339	35	0.32	.034
0.48	0.32	45	3	592	52	0.56	.049
0.94	0.63	102	53	675	58	0.64	.055
1.88	1.25	197	128	746	68	0.71	.064
3.75	2.50	376	321	866	70	0.81	.066
7.50	5.00	756	677	985	70	0.93	.066

\* 比放射能  $2 \mu\text{c}/\text{mg}$  のものを添加

5-3図 海水に添加した磷量とノリの同化量との関係



これによると、海水中の磷溶存量が増加するにしたがって、ノリの吸収量も増加して行くのが見られるが、溶存量が  $1.25\text{mg}/\text{L}$  以上になると吸収量は変化しなくなり、一定値になるのが見られる。

この結果から、海水中に溶存させる磷の量は  $1.25\text{mg}/\text{L}$  以上存在すれば支障はないものと考え、 $2\text{mg}/\text{L}$  の溶存量で実験を行なうこととした。この程度の溶存量があれば、実験中磷に不足を来たすことはない。

vi) 磷吸収の時間的变化

磷をノリに吸収させる場合、吸収が時間的にどのように変化するかについて検討を行なった。

実験は磷酸塩の形で  $\text{P}^{32}$  で標識した磷を  $2\text{mg}/\text{L}$  含む肥沃海水中にノリを湿量で  $5\text{g}$  入れ、磷を吸収させ各時

間毎の同化磷を  $\text{P}^{32}$  の計数値で比較を行なった。その結果は5-4図に示したようになり、これによると磷の吸収量は時間の経過と共に増加して行くが、72時間頃から増加の度合が少なくなり、120時間頃からほぼ一定値になる。

この結果から考えて、2日、あるいは3日後の  $\text{P}^{32}$  吸収量の方が測定誤差は少ないので、 $\text{P}^{32}$  の吸収速度の比較にはよい筈である。

しかし、実際に廃水の影響を検討するには長期間継続することは種々の制約があるので、以下の研究には吸収時間として24時間を採用した。

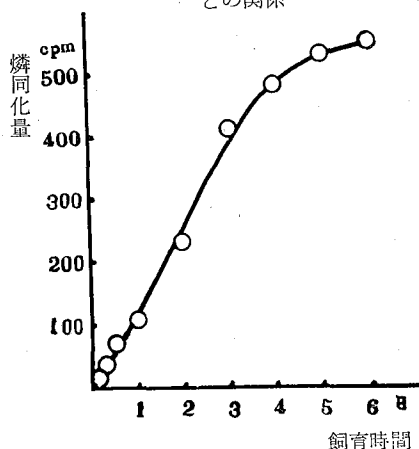
vii) 海水中の窒素量と磷吸収との関係

ノリに磷を吸収させる場合、添加した磷以外の栄養塩の中で主体となるものは窒素化合物である。

添加した栄養塩は Miquel の処法に準拠したので、窒素源として硝酸カリを用いた。実験は  $\text{P}^{32}$  を比放射能約  $2 \mu\text{c}/\text{mg}$  に含んだ磷酸塩を磷として  $2\text{mg}/\text{L}$  溶存させた海水に、窒素量を5-4表のように変化させた肥沃海水を作り、この中でノリの磷吸収の変化を比較したところ、5-4表に示す結果が得られた。

これによれば、窒素を全く添加しない場合には磷吸収が少ないが、 $5\text{mg}/\text{L}$  以上溶存している場合には窒

5-4図 磷同化量と飼育時間との関係



5—4表 海水中の窒素量と磷吸収量との関係

窒素量 *	磷量 **	吸収量
mg/L	mg/L	cpm
0	2	75
5	2	99
10	2	95
15	2	97
20	2	86
25	2	91

\* KNO<sub>3</sub>として添加

\*\*比放射能 2 μc/mg

いては、これは一般にいわゆる個体差に属するものと考えられるが、本研究において供試したノリは湿量で5gといったノリとしては比較的多量を用いているので、この点についてはかなり平均化されているものと

5—5表 採集地点を異にするノリの磷吸収比較

採集地点	I	II	III
1	1243	1091	1052
2	1133	1068	1043
3	1150	1035	1043
4	1139	1088	1043
5	1067	1172	1112
6	1206	1095	973

単位：cpm P<sup>32</sup>

## 2) 産業廃水による影響

基礎研究の結果に基づいて、各種薬品および廃水による磷吸収の影響を検討した。

実験は一般にノリに対して毒性を示すと認められている薬品を用いて、この方法による影響の評価の妥当性を検討し、次いでバルブ廃水の影響を検討した。供試した薬品および廃水を下に示す。

- i) 酸性液 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- ii) アルカリ性液 (NaOH)
- iii) 銅 (CuSO<sub>4</sub>)
- iv) 還元性物質 (Na<sub>2</sub>S)
- v) 晒粉
- vi) 淡水
- vii) クラフトバルブ廃水
- viii) サルファイトバルブ廃水
- ix) レーヨン工場廃水
- x) 澱粉工場廃水

実験方法はこれらの薬品および廃水をそれぞれ種々の濃度に調製し、これを直径18cmのガラス水槽に1.5ℓ取り、湿量5gのノリを入れて浮動を与えながら蛍光灯の照射下で24時間飼育した後、P<sup>32</sup>を比放射能約1μc/mgに混じた第一正磷酸ソーダを磷量として2mg/L添加した肥沃海中に移し、浮動を与えながら蛍光灯の照射下で24時間磷を吸収させ、ついでクロロフォルム混液中に移して96時間浸漬し、貯蔵磷を放出させた後の同化磷について比較を行ない、影響濃度を推定した。なお、使用した海水の塩分は29~30%であ

素量の多少にかかわらず磷の吸収に殆んど差異は見られなかった。また、全く窒素添加しない場合においても、磷吸収が少ないとはいえ添加した場合と余り大きな差異はなかった。これは、肥沃海水を調製する基の海水中にかなりの窒素源が含有されているためと想像され、Miquelの処法程度の窒素量があれば少なくとも窒素の不足と来たすことはない。

## viii) ノリによる磷吸収量の相異

この種の実験で問題となるものの一つに、実験に使用するノリによって磷吸収に相異があることがあげられる。すなわち、実験に使用する以前の環境その他の要因によって磷吸収が変動したり、また実験に使用した試料によって磷吸収が大きく影響される。前者に対しては、採取した養殖場の違いについて検討した。また、後者につ

考えたが、この両者について検討した。

検討の方法は、養殖場の異なった3種のノリをそれぞれ5gずつの6試料取り、同一条件下でP<sup>32</sup>を混じた肥沃海水中で24時間飼育を行なったものの全吸収磷について比較を行なった。この結果を5—5表に示す。

この表から採集地点の相異と、実験操作から生ずる磷吸収の差は、有意なものとは認められない(α=0.05)。したがって、本研究において使用したノリの磷吸収はかなり安定したものであると見てよい。

以上のような基礎実験の結果にしたがって、次に述べる廃水および薬品を用いた実験に対する研究方法を設定して実施した。

た。影響濃度の推定方法は、廃水および薬品の影響を与えないノリの磷同化量の変動から正常なものの棄却域を求め、廃水および薬品の影響を与えたものの中でこの棄却域外に出る値を示したものを影響を受けたものとした。棄却域の決定は次の方法によった。

正常なノリの磷同化量を  $x_1, x_2, x_3, \dots, x_N$  とし

$$\bar{x} = (x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_N) / N$$

$$u^2 = \{(x_1^2 + x_2^2 + x_3^2 + \dots + x_N^2) - (x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_N)^2 / N\} / (N - 1)$$

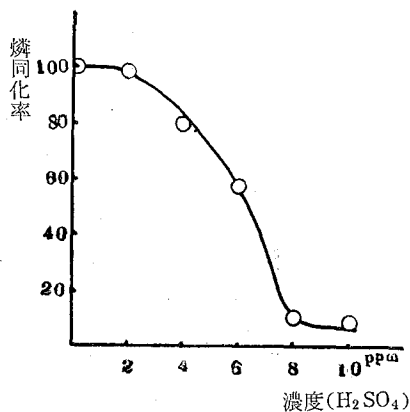
を求め、 $\bar{x} \pm u \{(N+1)F/N\}^{1/2}$  但し  $F: n_1=1, n_2=N-1, \alpha=0.05$  を正常なものの限界とした。

これによると正常と認められる限界は、正常値を100とした場合  $100 \pm 28$  となった。

### i) 酸の影響

海水中の硫酸の濃度と磷同化率の関係は5-5図に示すようになり、酸の濃度の増加と共に磷同化率が減少して行くのが認められ、その影響濃度は3.5ppmでありこのときのpHは6.0であった。

5-5図 酸の影響

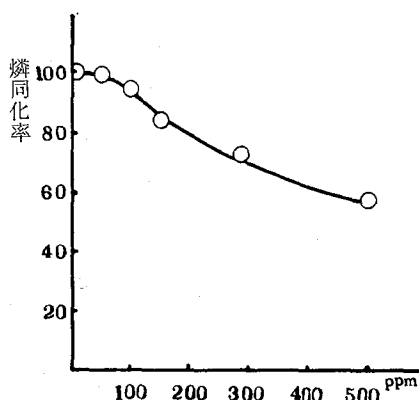


この量はかなり低濃度であり、またpH6.0で影響が現われることはノリが酸性液に対して抵抗が小さいことを示している。

### ii) アルカリの影響

苛性ソーダを用いて調製したアルカリ性液の濃度と磷同化率の関係は5-6図に示す。アルカリの濃度の増加と共に磷同化率の減少が見られるが、その

5-6図 アルカリの影響

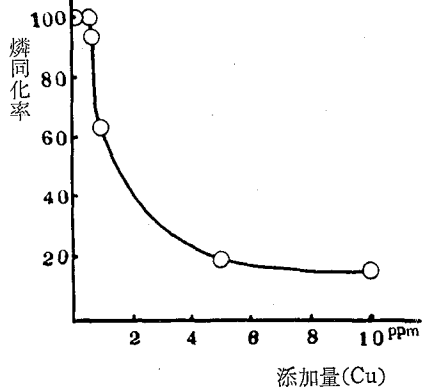


影響濃度は110ppmであり、アルカリ性液に対する抵抗性は強いようである。

### iii) 銅の影響

硫酸銅を用いて行なった銅の影響を5-7図に示す。これによると影響濃度は0.6ppmであって、しかも銅濃度の増加と共に磷同化率は急激に減少しており、この物質がノリに対して強い毒性を示すことがわかる。なお、pHは8.0であった。

5-7図 銅の影響



### iv) 還元性物質の影響

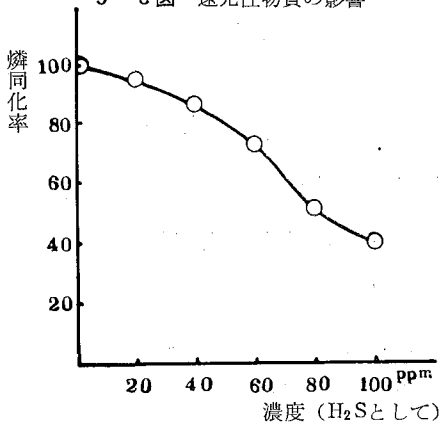
硫化ソーダを使用した還元性物質の影響を5-8図に示す。この影響濃度は、H<sub>2</sub>S換算値で30ppmである。

この物質は長時間沈澱池などに滞留した廃水中に認められるが、ここで認められる影響濃度は実際問題としてまれに見られる数値である。<sup>B2)125)</sup>しかし、漁場における実害の点では、殆んで問題にならないであろう。

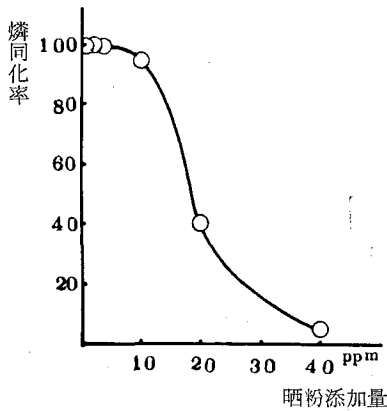
### v) 晒粉の影響

晒粉による影響を5-9図に示す。影響濃度は12ppmであり、かなり低濃度である。バルブ廃中にはしばしば晒粉あるいはこれと同系統の物質の混入があるが、バルブ廃水が多量の有

5-8図 還元性物質の影響



5-9図 晒粉の影響



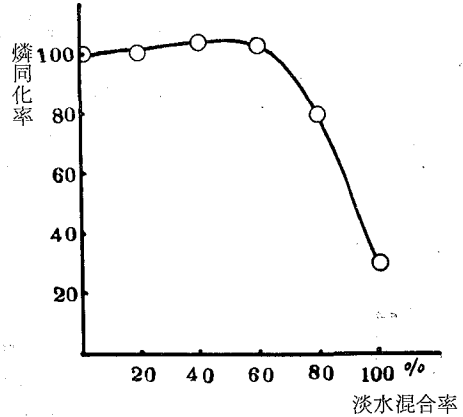
機物を持っているために放流される時まで残存しているとは考えられない。

したがって、この物質による実害はないであろう。

vi) 淡水の影響

淡水による影響は、24時間あるいは48時間の短時間では現われず、96時間の飼育によって変化が見られた。その変化は5-10図に示したようであり、80%の混合の時

5-10図 淡水の影響



に影響が見られた。したがって実際の問題として淡水の単独効果としての影響はないものと推察される。

以上のように、ノリに対して毒性を示す種々の薬品の存在によって磷同化量には変化が見られ、それぞれの濃度の上昇と共に影響が増大して行くのが見られる。したがって、磷同化量の変化を通じて廃水の影響を評価する

方法は妥当なものと認めることができる。

このような結果から、バルブ廃水および他の若干の廃水について検討を行ない、ノリに対する影響を評価して、廃水相互の比較を行なった。

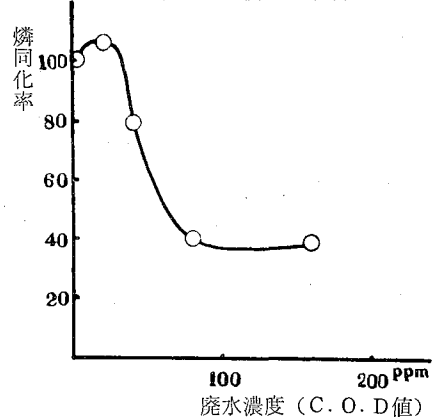
vii) バルブ廃水の影響

バルブ廃水はクラフトバルブ廃水 (KP) およびサルファイトバルブ廃水 (SP) について検討した。クラフトバルブ廃水による磷同化量の変化は5-11図に示したようになる。ここに見られる磷の同化量に変化が生ずる影響濃度は32ppm (C. O. D値) であって、この濃度を実際に廃水が波及している水域に求めると、その分布面積はかなり広大であるので、この廃水の影響は重要視しなければならない。

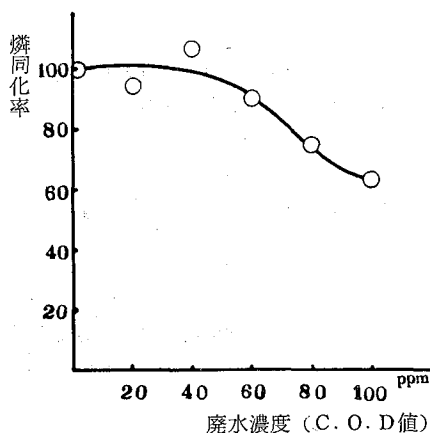
また、サルファイトバルブ廃水の影響は5-12図に示したようになり、その影響濃度は63ppm (C. O. D値) で、C. O. D値の比較においてはクラフトバルブ廃水より影響は少ない。しかし、この濃度も実際の問題としてありうる濃度であるのでバルブ廃水が磷同化に影響する可能性は十分にあるものと推察される。

viii) レーヨン廃水および澱粉廃水の影響

5-11図 KP廃水の影響



5-12図 SP 廃水の影響

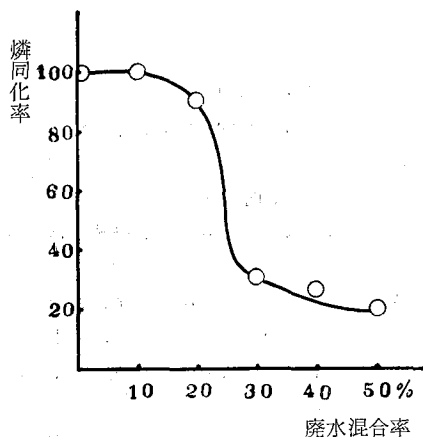


レーヨン廃水および澱粉廃水による影響を5-13図および5-14図に示す。

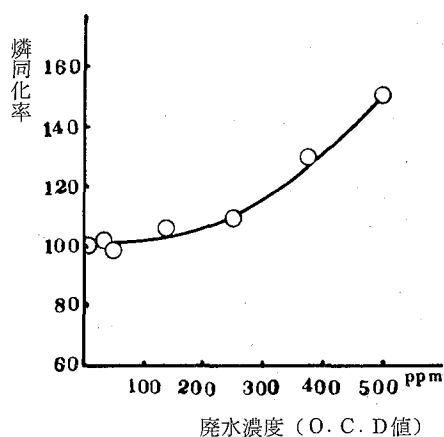
ここで、レーヨン廃水では廃水濃度の増加と共に磷同化率は減少しているのに反して、澱粉廃水では逆に上昇している。これは、澱粉廃水中にはノリの生理作用を阻害するような物質が存在していないことを示すものと推察される。また、レーヨン廃水の影響濃度として推定される値は18%の混合であり、これに使用した廃水はC. O. D 値100 ppm, pH3.0のものでこの廃水の18%混合海水はpHが6.2であった。したがって、レーヨン廃水によっては、バルブ廃水と同様に水産業上の実害が生ずる可能性があるが、澱粉廃水によって直接的な実害は生ずることはないであろう。

本研究において使用しい薬品および廃水の影響濃度を5-6表に取纏めて示す。

5-13図 レーヨン廃水の影響



5-14図 澱粉廃水の影響



5-6表 各種薬品および廃水のノリの磷吸収におよぼす影響

供試物質	影響濃度
サルファイトバルブ廃水	63ppm(C. O. D 値)
クラフトバルブ廃水	32ppm(C. O. D 値)
レーヨン廃水	18%, pH:6.2
澱粉廃水	—
酸 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	3.5ppm, pH:6.0
アルカリ (NaOH)	110ppm
還元性物質 (Na <sub>2</sub> S)	30ppm
銅 (CuSO <sub>4</sub> )	0.6ppm
晒粉	12ppm
淡水	80%

バルブ廃水とレーヨン廃水の比較において、本研究で使用したバルブ廃水はクラフトバルブ廃水がC. O. D 値で 800ppm, サルファイトバルブ廃水が1,000ppm のものであり、影響濃度はそれぞれ原廃水の $\frac{1}{25}$ および $\frac{1}{6}$ である。一方、レーヨン廃水の影響濃度は原廃水の約 $\frac{1}{6}$ である。レーヨン廃水は酸性であり、その上ノリは本研究結果からも推察できるように酸性液に対して抵抗性が弱く、レーヨン廃水も多くの問題を含む。しかし、原廃水に対する稀釈倍率から見た影響濃度の比較においては、バルブ廃水はより実害を与える可能性が強いようである。

## 2 藻類の細胞内脱水素酵素反応に対する影響

### 緒 言

尾形<sup>89)</sup>はアサクサノリを含むヒトエグサの薬品による傷害度を測定するために、T. T. C. を用いてノリの還元量を測定し傷害度を検討しているが、これはノリの細胞中における脱水素酵素反応の測定である。

ノリのような細胞中における脱水素酵素反応が、その生活現象においてどのような役割を果しているかは明らかではないが、動物の場合と同様に細胞呼吸に大きく関連していることは明らかである。したがって、脱水素酵素反応によって表示されるものは、藻類の活力をある程度示すものと考え、脱水素酵素反応に対する廃水の影響を検討した。

### 研究 方法

T. T. C. (2, 3, 5 triphenyl-tetrazolium chloride) を用いて測定したノリ細胞中の脱水素酵素反応が各種薬品および廃水の存在によってどのように変動するかを測定し、この方法の妥当性を検討すると共にバルブ廃水による影響を検討した。

産業廃水もしくは薬品を種々の濃度に海水中に混じたものを直径18cmのガラス水槽に1.5ℓ調製し、この中に湿量5gのノリを入れ、ゆるやかな浮動を与えながら40W白色蛍光灯の80cmの距離からの照射下で24時間飼育したノリについて測定を行なった。その操作は次に示す通りである。

- 1) 水洗により葉体付着物を除去。
- 2) 淡水で2%に稀釈した海水中にT. T. C. を1g/L混じた液中に浸漬、30°Cで24時間放置。
- 3) 呈色反応後濾紙を用いて水分を除去し、80メツシュのガラス粉少量と水4ccを加えて乳鉢中で粉碎、氷醋酸、トリエンを各6cc加えて試験管中に移し、十分振盪してT. T. C. から生じたフォルマザンをトルエンに移し、遠心分離後トルエン層のフォルマザンを光電比色計の波長520m $\mu$ で測定する。

尾形<sup>89)</sup>はアサクサノリおよびヒトエグサの傷害度の判定方法としてT. T. C. 反応を応用して好結果を得ており、本研究ではこの方法にしたがって行なった。

しかしながら、尾形はバルブ廃水のような産業廃水については検討していないので、廃水の影響を評価する方法としての適否について若干の追試を行ない、尾形の得た結果と一致した結果を得た。ただ、廃水の影響を検討するためには実験操作上水洗が重要な要素であることを知った。例えば、廃水および薬品の中にはそれ自身が還元力を持つものがあるので、それらが葉体に付着したままT. T. C. 反応を与えると結果の精度が低下する。したがって、水洗は十分に行なう必要がある。バルブ廃水についても水洗を行わずに実施したものは、反応が不安定であり再現性に乏しいが、水洗を十分に行なったものでは安定した結果を得ることができる。使用した各種薬品および廃水とその実験濃度範囲は次の通りである。

i) 酸 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0~100ppm
ii) アルカリ (NaOH)	0~500ppm
iii) 銅 (CuSO <sub>4</sub> )	0~2 ppm (Cuとして)
iv) 還元性物質 (Na <sub>2</sub> S)	0~100ppm
v) 晒粉	0~40ppm
vi) 淡水	0~100%
vii) レーヨン廃水	0~1,000ppm (C. O. D値)
viii) サルファイトバルブ廃水	0~100ppm ( // )
ix) クラフトバルブ廃水	0~150ppm ( // )

これらの薬品および廃水が脱水素酵素反応に影響する濃度の推定は、燐吸収に対する影響濃度の推定方法と同様の方法によって正常なものの棄却域を決定し、ここから逸脱するものを影響を受けたものとしたが、その範囲は正常なものを100とした場合 $\pm 20$ であった。このほか、呈色させた葉体の細胞を鏡検して正常に反応した細胞と異常のものとの比率を観察し、50%の細胞が異常を呈する濃度を推定して検討に際しての一助とした。

## 研究結果

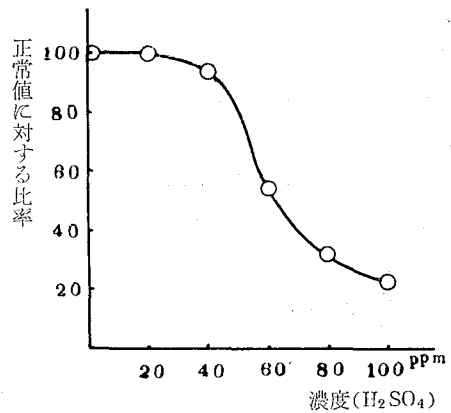
### 1) 比色法による影響の検討結果

前述した各種薬品および廃水がノリの脱水素酵素反応におよぼす影響を5-15図~5-23図に示す。

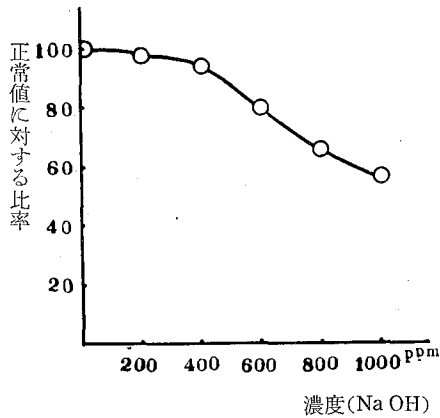
ここで認められることは、酸、銅のようなノリに対して毒性を示す薬品は、この反応にも影響を与え、薬

5-15図~5-23図  
各種薬品および廃水の脱水素酵素反応に  
及ぼす影響

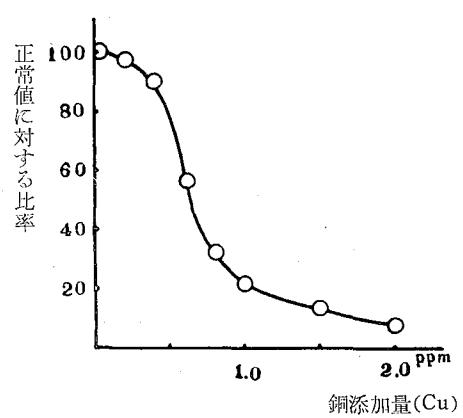
5-15図 酸の影響



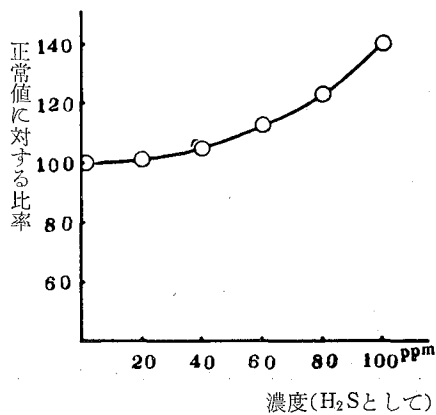
5-16図 アルカリの影響



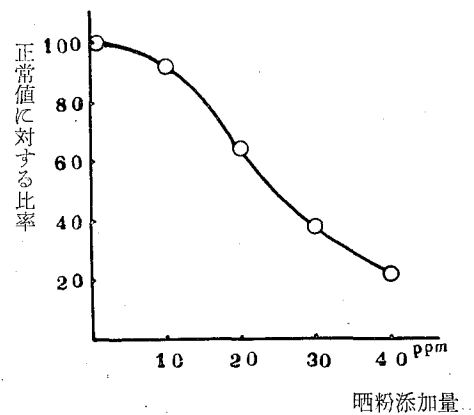
5-17図 銅の影響

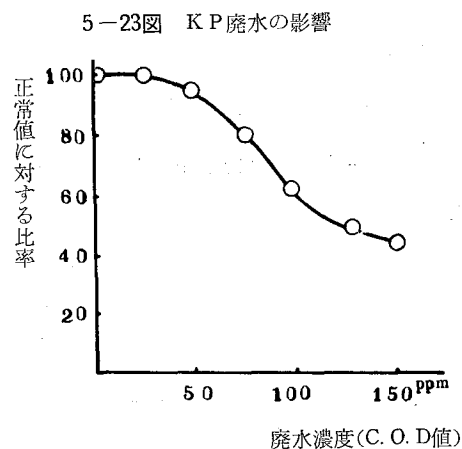
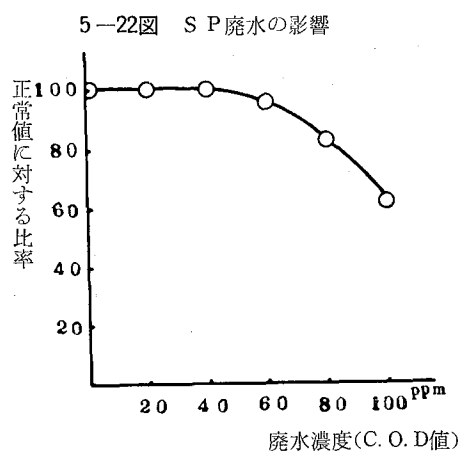
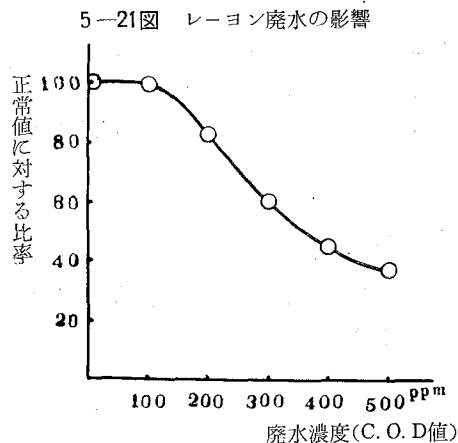
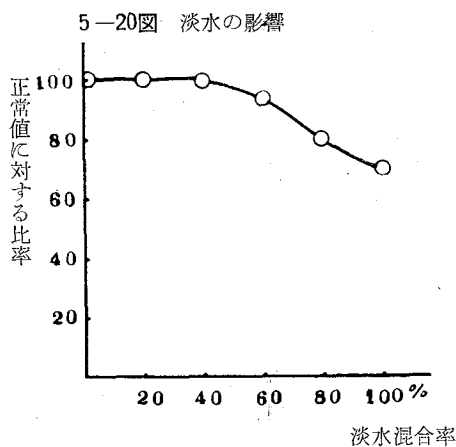


5-18図 還元性物質の影響



5-19図 晒粉の影響





品の濃度の増加と共に脱水素酵素反応が低下している。このような結果から、この反応はノリに対する毒性物質の影響を検討する方法として適当であると認められ、これらの結果から推定した影響濃度を5-7表に示す。各種薬品および廃水がノリの脱水素酵素反応におよぼす影響から見ると、酸性液、銅、晒粉に対しては抵抗性は弱い、アルカリ性液に対しては強い抵抗性を持っている。

5-7表 各種廃水および薬品のノリの脱水素酵素反応に対する影響濃度

	比色法	検鏡法
K P 廃水	75ppm	30ppm
S P 廃水	83	60
酸 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	50	50
アルカリ (NaOH)	600	500
銅 (CuSO <sub>4</sub> )	0.5	0.6
還元性物質 (Na <sub>2</sub> S)	—	—
晒粉	16	10
淡水	80%	80%
レーヨン廃水	40%混合, 210	57%混合, 300

廃水濃度：C O D値

T. T. C 反応を実施した葉体の細胞は、正常な状態のものでは細胞内原形質がほぼ一様に発色しており、しかもその発色の状態はかなり顕著である。しかし、高濃度の廃水もしくは薬品によって影響が与えられた細

バルブ廃水については、サルファイトバルブ廃水の影響濃度はそれぞれ83ppmおよび75ppmであって大差はない。

しかも、これらの濃度を実際に廃水が波及する水域に当てはめると、このような濃度の水域は極めて限定されており、実際の問題としてノリの脱水素酵素反応に影響を与えるような事態は少ないものと推察される。

## 2) 検鏡法による影響の検討結果



胞は殆んど発色していないが、廃水および薬品の濃度の低下と共に発色した細胞が増加して行く。発色した細胞の中にもその発色の度合に段階が見られるので、細胞内における脱水素酵素反応の影響の受け方は、廃水および薬品の濃度の増加と共に反応の低下が生じ、終には全く停止してしまうという過程であろう。

ここで、検鏡観察によって推定した影響濃度を5—7表に比色法による結果と比較して示す。これによると、比色法によって得られた影響濃度と検鏡法による結果とは殆んど一致しているが、バルブ廃水についてのみかなりの相異があり、特にクラフトバルブ廃水についてその傾向が著しい。この相異は、検鏡観察では反応に変化を生じた細胞を適確に把握できるので反して、比色法では十分な水洗を行なってもなおバルブ廃水の影響が加味されているものと推察される。したがって、このような場合には、検鏡観察によって得られた結果で検討の方がより妥当であろう。

また、還元性物質である硫化ソーダを用いた実験では、比色法においては5—18図に示したように、濃度の増加と共にT. T. C反応の増加が見られ、また検鏡観察においても葉体が一様に発色していたが、これは細胞内における反応による発色とは認められなかった。これは明らかに還元性物質の付着によるものであって、この結果は著しい還元力を持つ物質による影響の評価方法としてはこの方法が不相当であることを示すと同時に、比色法のみでなく検鏡法をも併用して実施することの必要性を示している。

全般的には脱水素酵素反応におよぼす影響濃度は高いのが認められるが、バルブ廃水については実際の問題として十分考慮しなければならない濃度であり、バルブ廃水の波及する水域の漁場では、脱水素酵素反応に対する影響が生ずる可能性があるものと推察される。

### 3 藻類におよぼす影響を評価するための細胞学的研究

#### 緒 言

一般に海藻類は構造が簡単であって、終胞の分化も発達していない。本研究の対象としているアサクサノリは海藻の中でも簡単な構造であるアマノリ類の一種であって、葉体は一層の細胞からなり細胞の分化は殆んど見られない。ノリの主要体部である葉本部は構造的に一種の細胞群集であって、細胞の異常は葉体の異常である所から細胞に対する廃水の影響を検討した。この種の藻類に対する細胞学的検討には廃水の細胞に対する影響を検討するため主として細胞に対する廃水の傷害の状態を把握するに止どめた。

#### 研究 方 法

ノリの細胞に対する廃水の影響を観察するために、種々の濃度に調製した廃水および薬品を混じた海水中に飼育したノリを、検鏡による異常の観察および硝酸銀溶液中において細胞に Molish 反応を与えて染色し異常を判定する方法を実施した。

##### 1) 検鏡検査による方法

種々の条件において飼育したノリを取上げ、その細胞に生じている変化を観察し、顕微鏡下で枯死細胞の比率を求め、24時間の飼育によって枯死細胞が50%に達した濃度を影響濃度として評価した。細胞の枯死判定は原形質の凝集の有無によった。

##### 2) 硝酸銀反応による方法

細胞を硝酸銀溶液に浸漬すると、細胞内原形質は硝酸銀と反応して黒色に染色される。その染色される度合は細胞内の原形質の状態をある程度表現するといわれているので、この方法によって細胞の異常の状態および検鏡検査の場合と同様に枯死細胞が50%に達した濃度を影響濃度として評価した。

その術式を下に示す。

廃水もしくは薬品を種々の濃度に混じた海水中に一定時間飼育したノリを；

- i) 水洗
- ii) 2%硝酸銀溶液中に40分間浸漬
- iii) 20%チオ硫酸ソーダ溶液中に5分間浸漬
- iv) 軽く水洗

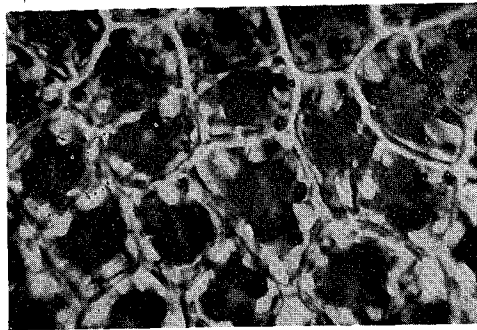
v) 検鏡

尾形<sup>87)</sup>はこの方法がノリ細胞の傷害度を検討する方法として優れている旨を報告している。この方法は葉体に附着した海水と硝酸銀が反応して塩化銀の白濁を生じ検鏡に支障をきたすので、実施する前に十分の水洗を行なう必要がある。

研究結果

廃水もしくは薬品を混じた海水中に飼育した後、無処理のまま検鏡して細胞の異常を判定する場合、低濃度の廃水もしくは薬品の影響を受けたものでは判別が困難な場合があるが、高濃度のものでは細胞内原形質の凝集が生じ細胞の境界が画然として判別できる。その一例を5-24図に示す。ハルブ廃水ではC. O. D値

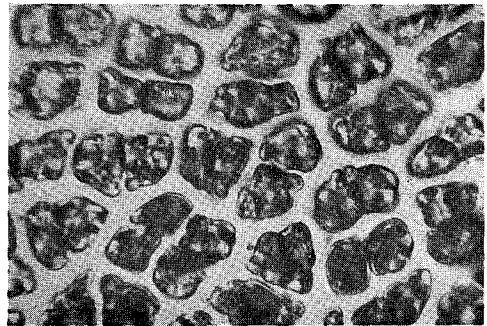
5-24図 ノリ細胞に見られる変化例



正 常



晒粉による変化



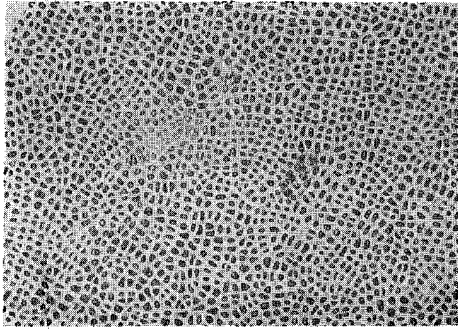
酸による変化

で200ppmに達するまでこのような変化は見られなかった。一方、ノリの葉体に硝酸銀反応を与えると細胞は凝集し、生細胞は黒色に染色されるが、枯死細胞は染色されずに残る。例えば、酸により影響されたノリの場合の結果は5-25図に示すように、濃度の増加と共に非染色細胞の増加が見られる。また、染色された細胞中にも5-26図<sup>87)</sup>に示すごとく、その染色の度合に濃淡が見られる。これは終胞の傷害の程度によって生ずるといわれているが、本研究では観察結果の客観性を考慮して、染色されたものとされないものとを判定の規準として影響濃度を推定した。このようにして評価した結果を5-8表に示す。

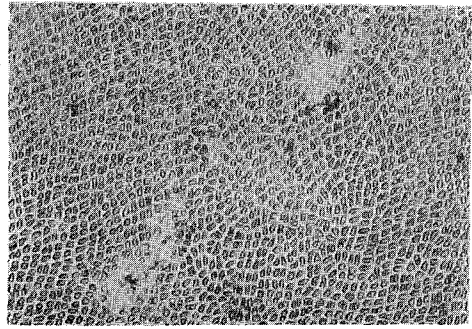
ここに示した二種類の方法で細胞の異常を観察した結果から、硝酸銀反応を与えて観察する方法が細胞の異常をはっきりと把握できる点有利であり、より適当な方法といえる。

これらの方法によって得られた結果は、枯死細胞の比率が50%に達した場合の影響濃度であるので、魚貝類の場合のTLm値と同様に評価されなければならない。ここに見られる影響濃度はいずれも高濃度であり、5-8表に示した薬品および廃水が実際の問題として単独で直接的にノリを枯死させる事例は少ないものと

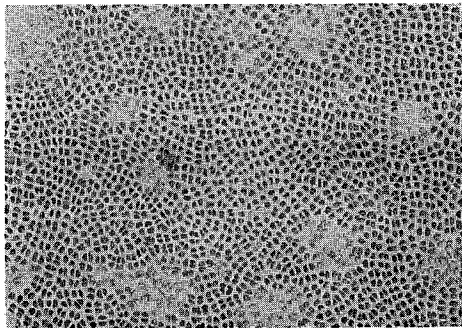
5-25図 硝酸銀反応による一例



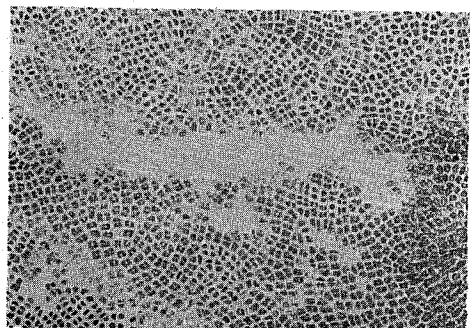
正 常



酸性液の影響(1)

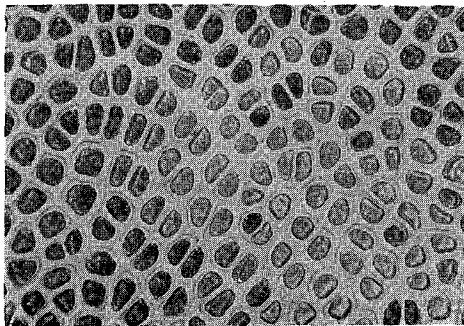


酸性液の影響(2)



酸性液の影響(3)

5-26図 染色状態の相異



5-8表 各種廃水および薬品のノリ細胞に及ぼす影響濃度

	無処理検鏡	硝酸銀法
K P 廃水	200迄無影響	80ppm
S P 廃水	同上	150
酸 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	60ppm	50
アルカリ (NaOH)	500	400
銅 (CuSO <sub>4</sub> )	2.0	0.8
還元性物質 (Na <sub>2</sub> S)	100迄無影響	80
晒 粉	30	20
淡 水	100%	80%
レヨン廃水	50%混合, 250	40%混合, 200

廃水濃度：C. O. D値

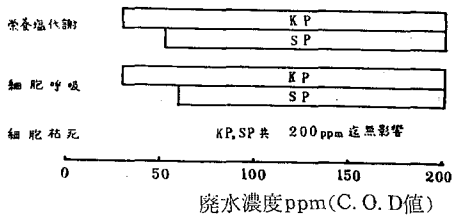
推察される。特に、パルプ廃水では、その直接的な影響によって枯死が生ずる能性は殆んどないであろう。

#### 4 論 議

本研究の結果認められたアサクサノリに対するパルプ廃水の影響を5-27図に取纏めた。

すなわち、ノリの栄養塩代謝および細胞内脱水素酵素反応から判定すると、これらに対する影響は実際に廃水の波及する水域において生ずる可能性がある。しかし、廃水の直接的な影響によって葉体が枯死することは、枯死細胞が生ずる濃度が非常に高い点から見てその可能性は少ない。しかしながら、実際に漁場での

5-27図 ノリの生理作用に  
対する影響濃度



ノリの被害として葉体の枯死がしばしば生じている。ノリは自然条件の変動によっても枯死、成長不良などの現われ方が顕著であって、悪条件の相乗作用の起き方によってはパルプ廃水によって葉体が枯死する場合があるかも知れない。栄養塩代謝の低下および細胞呼吸能力の低下はノリの不健康化を示すものであって、敦賀・新田はノリの病害が発生し易い条件としてノリの化学組成の不均衡化をあげて、栄養塩代謝障害により病害が発生し易くなると報告している。したがって本研究において認め

られたような生理的影響が生ずることは病害に対する抵抗性の低下を示すものであり、このような二次的障害のために枯死に至る可能性が生ずるものと推察される。少なくとも廃水の存在によって栄養塩代謝および細胞呼吸能力が低下することから、廃水の存在がノリの成育にとって不適当な条件を作って成長不良あるいは枯死の現象が生ずることも想像できる。

このほか、廃水のノリに対する影響として、ノリの品質低下による商品価値の減少がある。佐野はノリの品質を低下させる最大の要素は色調および光沢の変化であり、これらの変化はノリの栄養塩不足によって生ずることを報告し、採取したノリを栄養塩を添加した水中に浸漬して吸収させることによって色調の回復を図ることができると述べている。このように、ノリの品質と栄養塩吸収との間には密接な関係があることを考えに入れると、廃水の影響により栄養塩代謝が低下し、ノリの品質が低下している。生物学的な意義においても、<sup>95)</sup> 燐化合物が藻類の成育に大きな役割を果している。Harvey <sup>(42)</sup> および松江 <sup>(73)</sup> は海水中の燐化合物の欠乏によって藻類の成育が停止することを実験的に認めており、藻類自身の同化力が減退した場合においても燐化合物の欠乏が起きることになる。したがって、パルプ廃水が波及する水域に実際に見られるような低濃度の廃水によって燐同化量が影響される事実は、廃水の影響が藻類の成育上重大な支障となることを証拠づけている。

## 摘 要

- 1) 水産業上の有用性および漁業被害の現状から、藻類の中でアサクサノリが最も重要な藻類である所から、アサクサノリを研究対象に選定して廃水の影響を検討した。
- 2) 影響の評価方法として燐同化作用に対する影響、細胞内脱水素酵素反応に対する影響、および細胞の枯死に対する影響を検討した。
- 3) アサクサノリに対するパルプ廃水の影響は、低濃度において栄養塩代謝および細胞呼吸に影響を与え、また高濃度では細胞を枯死させるが、実際に廃水の波及する水域においてはその影響濃度から見て廃水が直接影響して葉体を枯死させると考えることはできない。実際の漁業被害としてしばしば認められるノリの枯死は、生理機能の低下した際における自然環境条件の変動などの悪条件の相乗作用の結果と推察される。また、廃水によるノリの品質低下も栄養塩代謝の低下によって生ずるものと推論した。したがって、ノリの廃水による生理作用の障害はノリの生活の基礎的条件に対する影響であるので、影響としては高く評価されねばならないことを論じた。

## 第六章 パルプ工場廃水の水産生物におよぼす 影響に関する論議および結論

### 1 パルプ工場廃水の水産生物におよぼす影響の本質と水産業上現われる被害との関連

魚類に対する低濃度の廃水の影響は、その血液性状に酸素欠乏の症状が認められることである。その症状は濃度の増加と共にヘモグロビン量、赤血球数の減少、赤血球抵抗の低下などの血液性状の変化、血清蛋白組成の変化が認められる。これらの症状が発現すると共に、体内主要器官に病理組織学的および細胞化学的变化が生じている。窒息症状の発現は鰓の粘液分泌の異常昂進と前後して観察される。血液性状に見られる窒息症状は鰓の粘液分泌過多によって二次的に生じたものであると認められた。一方、体内主要器官の中で肝臓、脾臓、腎臓、膵臓に見られる種々の病理組織学的および細胞化学的变化は、その大部分のものが血液障害もしくは血液中への毒性物質の侵入によって生じたものと見ることができる。血液中への毒性物質の侵入は鰓の傷害によって生じたものである。海産魚の小腸に見られる変化の中で、上皮細胞の壊死脱落は明らかに毒性物質の経口侵入を示すものであり、これらは魚類に対するパルプ廃水の影響の本質を示すものである。

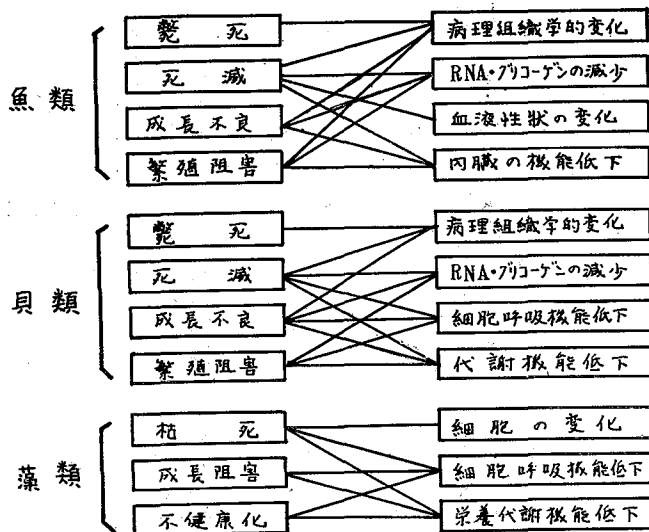
貝類に対しては、低濃度の廃水の存在は、すでに栄養代謝の障害を与え、長時間の廃水中での棲息によって貝体には病理組織学的および細胞化学的变化が現われる。胃、腸および消化盲嚢に見られる変化は毒性物質の経口侵入を示している。体周囲結合織の体表部分の粘液分泌の昂進、結合織の解離および細胞の空胞化は体表面からの毒性物質の侵入を示すものである。

このように、魚類および貝類に対する影響は、廃水中の毒性物質によって生じているが、廃水を種々の方法で処理したものに魚類および貝類を飼育した結果によると、廃水中の毒性物質は凝集沈殿によって除去され得るものである。また、廃水中から分離した樹脂成分が毒性物質として重要なものであると断定できる。

一方、有用海藻であるノリに対する影響は、栄養塩代謝機能の障害、細胞呼吸の低下となって現われる。

廃水の濃度の増加にしたがって細胞の枯死が生ずる。廃水中に含まれるノリへの毒性物質の本体は、本研究においては明らかにされなかったが、農林水産技術会議の資料<sup>86)</sup>および河辺・富山<sup>61)</sup>によればパルプ廃水中の樹脂成分が緑藻類に対して極めて大きな障害となるから、ノリに対しても魚類および貝類と同様に毒性物質としては樹脂成分が大きく関与しているものと考えられる。

6-1 表 水産業上の被害と生理作用への影響の関係



このような結果から、パルプ工場廃水の水産生物に対する生理学的影響の本質は、廃水中に含まれる毒性物質による中毒であり、しかもその毒性物質として樹脂成分が大きく関与している。

一方、水産業上の被害と生理学的影響との関連について見ると、パルプ廃水が水産生物に影響を及ぼしている現象には魚貝類の斃死、死滅、成長不良、繁殖阻害、棲息不能、漁獲減少、魚類の散逸および藻類の枯死、成長不良、不健康化などである。この中で主なものは水産生物の生理作用の異常と関連する。その大略は6-1表に示すようなものと推定できる。すなわち、魚貝類の体内

主要器官に見られる病理症状は、それが重いものであれば直接斃死に導き、その症状が軽いものであれば成長不良あるいはその結果の死滅現象が生ずる原因となる。成長不良は繁殖阻害の原因ともなり得る。

また、体内諸器官に見られる細胞化学的变化の中で魚類の肝臓および脾臓内、貝類の消化盲嚢中のRNAの減少および消失は、RNAが生体内における蛋白合成機能に大きく関与している点から成長不良に関係してくる。この点も、繁殖阻害および死滅に関係してくる。そのほか、血液性状の変化および主要器官主として肝臓の機能低下、肝臓内グリコーゲンの減少なども魚類の成長不良に関係する。

このように水産業上現われる諸現象の多くは生理作用の異常によって起こるものといえる。また、藻類に見られる諸変化も水産業上現われる影響と関係する。

特に栄養塩代謝の機能低下は種々の型の被害として現われる。廃水の波及する漁場こしばしば見られるノリの病害の発生は、ノリの不健康化が大きな原因となっているものと考えられ、またこの不健康化は栄養塩代謝機能の低下による所が極めて大きいと推定される。

## 2 パルプ廃水の水産生物におよぼす生理学的影響の解析

本研究において認められた水産生物におよぼす廃水の生理学的影響には二つの段階がある。すなわち、魚類において認められた血液の赤血球数の増加などに見られる窒息状態、鰓の粘液分泌の昂進に始まり、体内諸器官の病理組織学的変化に至る一連の生理的影響、貝類に見られる鰓の粘液分泌昂進に始まり、病理組織学的変化に至る変化、および藻類に見られる栄養代謝機能障害に始まり、細胞の枯死に至る生理学的変化にはいずれもその変化の途中に一つの転期が存在する。

これらについて、いずれの場合も低濃度廃水による粘液分泌昂進あるいは栄養代謝機能の障害のような本組織に病理組織学的な変化を伴わない生理学的変化と、体組織に病理組織学的な変化を生ずる異常とが認められる。これらの変化の中で体組織に変化を生ずるような影響は、一変このような変化が本内に生ずると仮りに環境条件がその後好転しても正常に復するまで長時間を要するか、あるいはその変化の程度によっては正常に復することが不可能に近い。しかしながら、体組織に形態的な変化が生じない場合には、環境条件が好転した場合正常に復する可能性は多分にある。したがって、一連の生理学的影響の過程の中に廃水の影響として大きな岐路が存在する。

この岐路を境として生じている影響がいずれの側で存在しているかはその影響が水産業上の被害にまで発展するか否かを示すものと推察され、生物学的実験を通じて水産業上の被害を想定する場合十分考慮すべき点である。明らかに短時間内に回復可能な現象を判定の規準として行なった生物学的実験から水産業上の被害特に水産生物の死滅、成長阻害などを評価することは必ずしも常に妥当な方法ではなく、想定すべき目的に応じた研究方法によってそれぞれ評価が行なわれなければならない。

## 3 生理学的影響と生態学的影響との関連

廃水の水産生物におよぼす影響を評価するために、生物の生態反応を利用した実験方法がしばしば用いられている。その代表的なものは嫌忌量および不好量であって、前者は生物が悪環境条件を感じて回避する現象が生ずる濃度であり、後者は悪環境条件における分布密度に差異を生ずる濃度である。高安および藤谷・新田<sup>25)</sup>によって測定されたこれらの結果から求めた影響濃度と本研究によって得られた生理学的影響濃度を数種の薬品およびパルプ廃水について比較した結果を6—2表に示す。ここで認められることは苛性ソーダの不好量を除いて、すべて生態反応によって求めた影響濃度は生理学的な影響濃度に比較して高い傾向にある。また、すでに第四章において述べたように、貝の生態反応の一つである殻の開閉と生理学的影響との関連においても同様であり、廃水による生理作用への影響は生態反応に先行する可能性がある。この種の生態反応の生ずる原因は生理作用に対する影響が生じた結果か、もしくはそのよ

6—2表 魚類の主な生態学的影響濃度と生理学的影響濃度との対比

供試物質	嫌忌量 ppm	不好量 ppm	生理的影響 ppm
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6—24		5—20
NaOH	3'—130	5—10	10—50
CuSO <sub>4</sub>	2.5—5.2		0.1—0.5
パルプ廃水	60—200	30—50	10—50

廃水濃度：C. O. D値

うな影響が与えられることを感覚生理の上で感じ取った結果であると推察される。このことから見ると、生態反応は生理作用への影響がある程度進んでから現われる可能性があり、廃水の水産生物に対する影響を評価するに際しては、生態的反應による生物学的評価のみでなく、生理学的な評価をも併せて実施する必要性を示している。

#### 4 クラフトパルプ廃水とサルファイトパルプ廃水の毒性の比較

毒物の生物に対する毒性の比較は、生物にある種の反応が生ずる毒物の濃度の比率を用いて大略の比較を行なうことができる。本研究において得られた結果からその比率を求めると6—3表のようになり、クラフトパルプ廃水の方がサルファイト廃水より、魚類に対しては2.0~2.5倍、貝類に対しては2.9~3.1倍、藻類

6—3表 クラフトパルプ廃水とサルファイトパルプ廃水の影響濃度の比較

	K P 廃水	S P 廃水	S P / K P
魚 類 (血液性状)	ppm クロダイ 10 コイ 15	ppm 25 30	2.0—2.5
貝類(カルシウム吸収)	アサリ 60 マガキ 51	175 160	2.9—3.1
藻 類(磷 吸 収) (細胞呼吸)	— 32 < 75(比色) 30(検鏡)	63 83 60	1.1—2.0

廃水濃度：C、C、D値

に対しては1.1~2.0倍毒性が強い。これはパルプ製造方法の相異からくる毒性物質の含有量の相異によるものであって、柴田<sup>99)</sup>はクラフトパルプ廃水とサルファイトパルプ廃水の毒性の比較でクラフトパルプ廃水の毒性が約2.5倍強いことを述べ、その原因として製造方法の相異によるものである旨述べている。

毒性物質の中の樹脂成分の含有量は、クラフトパルプ廃水中にはサルファイトパルプ廃水中の約1.5倍含まれているといわれ

<sup>83)</sup>ているが、このような含有物の相異によることが考えられる。

一方、工場から排出される廃水について見ると、サルファイトパルプ廃水の方が濃度に遙かに高く、クラフトパルプ廃水はその製造工程の一環として木釜液から薬品の回収を行なうのが通常であるので排出される濃度は低い。したがって、工場から排出された廃水について比較すれば、クラフトパルプ廃水の方が実際には影響が<sup>99)</sup>少ない。しかも、廃水の浄化の上でも、サルファイトパルプ廃水が生物酸化あるいは生物濾過法のような複雑な方法によらねばならないのに反して、クラフトパルプ廃水は河辺・富山が<sup>57-61)</sup>述べているように酸添加あるいは薬剤凝集によって処理することができる点有利である。

このように、クラフトパルプ廃水はサルファイトパルプ廃水に比較して同一濃度における毒性は強いが、実際の問題としては浄化が比較的容易であるクラフトパルプ廃水の水産生物に対する影響の方が少なくなるので、今後のパルプ工場としてはクラフト法の方が望まれる。

#### 5 海産魚と淡水魚の影響の現われ方の相異

一般に廃水の魚類に対する影響は海産魚と淡水魚とでは差異があるといわれ、本研究の結果においても供試魚であるクロダイとコイとでは廃水の影響に相異が見られた。

海産魚と淡水魚の廃水による影響の現われ方の相異は、魚類の生物学的な性質の相異によるものと、棲息環境の相異によるものとがある。本研究において認められた両魚種についての相異を6—4表に示す。

ここに見られる影響濃度の相異は、廃水もしくは毒物に対する抵抗性の差異からくるものと考えられ、<sup>74)</sup>松江は魚種によって廃水に対する抵抗性の相異が大きいことを述べている。

一方、病理組織学的変化の中で、クロダイでは小腸内に上皮細胞の壊死、脱落などの著しい変化が生じ、明らかに毒性物質の腸管内侵入を示しているが、コイではそのような症状は見られていない。この相異は腸管内への外圍環境水の侵入の有無を示すものであって、一般に淡水魚は水を飲まないが、海産魚は飲む事実と符合し、海産魚と淡水魚の生物学的な性質の相異に原因している。また、鰓に見られる懸濁物の付着の有無は棲息環境の相異、すなわち淡水と海水による廃水の変化の相異によって生ずるものである。

すなわち、パルプ廃水中の有機物のあるものは、海水中では凝集し易い<sup>83)</sup>といわれ、この細かな懸濁物が鰓

6-4表 パルプ廃水の影響の現われ方の  
海産魚と淡水魚の相異

項 目	相 異 点	
影 響 濃 度	クロダイの影響濃度がコイよりもやや低い	
病理組織学的 症状	鰓	クロダイ：懸濁物の附着が著じるしい コイ：懸濁物の附着がない
	小 腸	クロダイ：上皮細胞の壊死脱落を認める コイ：上皮細胞の壊死脱落はない
	主要器官	クロダイ・コイの両種に見られる症状に 大きな差異は認められない

に附着するものと推察される。パルプ廃水以外にも3-13表にすでに示したごとく、水槽内の飼育実験において、苛性ソーダ、硫酸銅のような薬品を加えると、海産魚では鰓における懸濁物の附着が著るしいのに反し、淡水魚ではこれが見られない。これは、海水に苛性ソーダおよび硫酸銅を加えるとそれぞれ  $Mg(OH)$  および  $Ca(OH)_2$  が生じて鰓に附着するが、淡水の場合にはこれらの沈澱が微量なために附着が認められないのであろう。

このように、海産魚と淡水魚との間には生物学的性質と棲息環境の相異に起因する影響の差異があり、海水と淡水では毒性物質の作用機構も異なるであろうから、海産魚に対する影響と淡水魚に対する影響を同一視することはできない。特に海水中における銅のような金属塩の影響はイオンとしての影響のみでなく、懸濁物としての影響も無視することはできない。

## 6 廃水濃度の表現方法

本研究における廃水濃度の表現はすべてC. O. D値によったが、これは水中溶存物質の化学的酸素要求量を示すものであって、これ自体が廃水の毒生を示すものではない。しかしながら、廃水の稀釈その他による<sup>81)</sup> 廃水濃度の変化、水域における廃水の濃度傾斜を表現する方法としては妥当な方法であるといわれており、廃水中の毒性物質も廃水の濃度に応じて増減しているものと推定されるので、廃水の水産生物に対する影響を評価する際における濃度の表現方法として、C. O. D値を用いても大きな支障はない。

パルプ廃水の濃度の表現方法は研究者によって異なり一定していない。主として採られているC. O. D値以外の方法は、リグニン量、B. O. D値、乾物量などであるが、廃水濃度の相互比較、あるいは水域における稀釈の状態を把握できる方法であれば、水産生物に対する影響を評価する上で支障はない。しかしながら、生物に対する影響の評価のみでなく、化学的検討の目的でも適合することが必要であり、多目的の表現方法として適当な方法を選定して一定した表現方法を用いることが必要であり、これによって異なった水域で、異なった研究者によって行なわれた研究の相互比較がより容易となるであろう。

## 7 パルプ廃水の急性毒作用および慢性毒作用と生理学的影響との関連

廃水の魚類および貝類に対する影響を表現する場合、急性毒、慢性毒という表現がしばしば使用されている。しかし、これらの表現は極めて概念的であって<sup>83)</sup> 確然とした定義はないようである。短時間内に魚貝類の斃死させるような毒性を急性毒と称しており、それ以外の場合が慢性毒と称されている。

本研究において認められた魚類および貝類に対する廃水の影響を見ると、生じている影響を二つの段階に分けて考えることができる。一つは主要器官および本組織に病理組織学的な変化は生じていないが、その機能に変化が生じている場合である。例えば、本研究によって認められた症状の中で、鰓の枯液の異常分泌、腸の粘液の分泌昂進、肝細胞中のグリコーゲンおよびRNAの減少、膵臓内のRNAの減少などがこれに相当する。魚類についてはC. O. D値5~10ppmの濃度で12時飼育したもの、貝類についても同様にC. O. D値5~10ppmの濃度で6~12時間飼育したものにそのような症状が見われている。このような変化が最終的な結果として生ずるような場合が慢性的な生理学的症状と考えられ、また変化が病理組織学的変化にまでおよぶような場合および直接斃死原因となるべき症状が与えられる場合を急性毒と考えると明確となる。これまで概念的な表現に止どまっていた急性毒作用、慢性毒作用の表現に対する定義を提唱したい。

このような考察のもとに分類した結果を6-5表に示す。

この分類にしたがってパルプ廃水の毒作用を考えると、魚類では病理組織学的変化がC. O. D値で25~50ppmで、また貝類では20~50ppmで認められているので、魚貝類に対して急性毒として作用する限界はC.



6-5表 急性毒作用と慢性毒作用の分類

急性毒作用		慢性毒作用	
生理上現われる異常	結果の現われ方	生理上現われる異常	結果の現われ方
神経毒によるショック死、窒息死および病理組織学的変化を伴った主要器官の機能低下	斃死	病理組織学的変化を伴わない栄養代謝障害および主要器官の機能低下	成長不良繁殖阻害

O. D値で20~50ppm であり、これ以下の濃度では慢性毒として作用するものである。

8 安全濃度の評価方法に対する提言

各種廃水の水産生物に対する影響を防除するために、過去においても種々の方法が採られていたが、近年水産用水の水質標準を設定する試みがなされている。この試みの一般的な考え方は水産生物に対する安全濃度を求めて、水産生物がその濃度

度以上のものに遭遇しないような方策を立てて水産生物に対する影響を防除しようとするものである。安全濃度を推定する方法の中で、最も一般化されているものは、Doudoroff<sup>10)</sup>によって提唱された水産生物の棲息許容限界 (TLm : Median tolerance Limit) を求め、(48時間の TLm) × 0.1 をもって安全濃度とする方法であって、これは Henderson<sup>38)</sup>によって提唱され、ORSANCO (Aquatic Life Advisory Committee of the Ohio River Valley Water Sanitation Commission)<sup>90)</sup>の水質標準に採用されており、本邦においても採用されつつある。Doudoroff<sup>10)</sup>によれば廃水の水棲生物におよぼす影響は、その生物の廃水に対する抵抗性、廃水が放流される水域の水の性質その他の条件によって差異があるので、廃水の影響を評価するに当っては、それぞれの場合に応じてその水域に棲息する生物の中の最も抵抗性の弱いものを用い、場合によっては検討すべき水域の水を用いて TLm を求めるべきであると述べており、また Henderson は TLm × 0.1 の評価方法は研究の進展によって不適当であることが認められれば変更されるべきである旨を述べている。

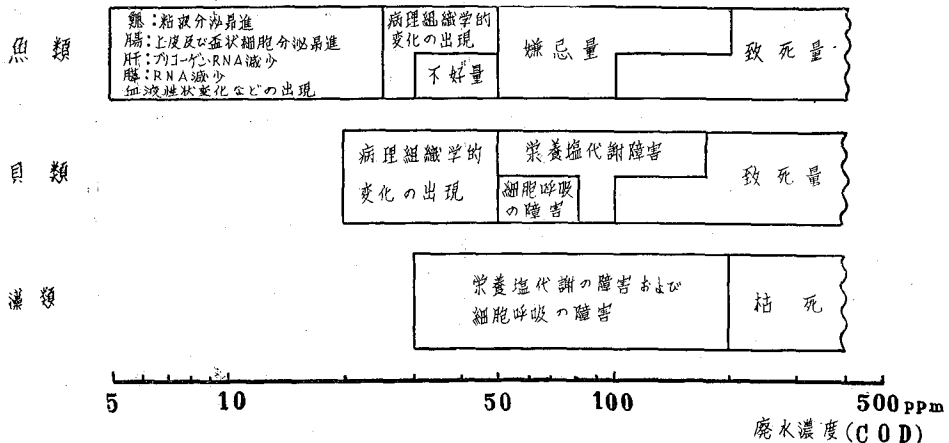
パルプ廃水に関しても、工場の規模によって排水量に差異があり、放流される水域の性格およびその水域の棲息生物の種類の相異によって影響に差異があるのは明らかであら、普遍的な安全濃度の推定は困難であり、それぞれの事例に応じて検討がなされるべきである。Henderson の方法によって安全濃度を推定すると、パルプ廃水の48時間 TLm は水産庁による昭和31年度水質委託調査結果<sup>11)</sup>によれば、K.P.S.P.その他を通じてC. O. D値で100~400ppmであるのでTLm × 0.1はC. O. D値で10~40ppmとなる。

一方、本研究によって求められた生理学的影響が発現する最低濃度はC. O. D値で5~10ppm であるので、TLm × 0.1によって安全濃度を評価することは必ずしも適当ではなく、本研究の結果から求められる安全濃度はTLm × 0.025~TLm × 0.05となっている。

9 パルプ工場廃水の水産生物におよぼす影響の評価

本研究において得られたパルプ廃水の生理学的影響についての結果およびすでに報告されている生態反応

6-6表 パルプ廃水の水産生物に対する影響濃度の対比



から見た影響の結果を総括すると6-6表に示すようになる。

一方、主なパルプ廃水の排水口における濃度は、新田によれば6-7表に示すようなものであるといわれている。

6-7表 主なパルプ廃水の廃水濃度 (新田による)

廃水種別	廃水濃度 (C. O. D値)
クラフトパルプ	300—900 ppm
サルファイトパルプ	1000—2000
ソーダパルプ	500—2000
セミケミカルパルプ	500—700
濃度範囲	300—2000

6-8表 生理的影響が生じないための必要稀釈倍率

	急性毒作用	慢性毒作用
魚類	15—100	60—400
貝類	12—100	60—400
藻類	12—80	
範囲	12—100	60—400

したがって、水産生物に生理学的な影響が生じないような状態を期待するためには、少なくとも6-8表に示すような倍率に稀釈が行なわれなければならない。

これを水域について当てはめて見ると、河川で

はこのような稀釈率を望むことは不可能に近い。すなわち、河川において廃水の稀釈を支配するものはその流量であって、最も良く稀釈された場合においてもその流量に対する廃水量の比率以上には稀釈されることはない。河川の流量はその変化が大きく、降水量などに左右されて一定していないが、本邦の主要河川の流量を6-9表に示す。これらの河川は本邦の代表的なものであってその流量も多いが、大部分の河川は大田

6-9表 主要河川平均流量

河川名	平均流量	河川名	平均流量
利根川	1849	吉野川	1313
石狩川	4622	富士川	596
信濃川	4363	荒川	233
北上川	2695	築後川	1503
十勝川	1753	岩木川	674
淀川	794	常呂川	225
阿賀野川	3576	熊野川	337
最上川	1745	四万十川	1088
天塩川	794	大淀川	1114
阿武隈川	1468	吉井川	588
木曾川	304	球摩川	639
天竜川	2177	五箇瀬川	570
雄物川	2194	紀ノ川	181
米代川	1875	矢作川	449
江ノ川	1089	由良川	224

(1961年刊理科年表より)

平均流量：万立方米/日

川(53万立方米/日)程度あるいは以下のものが大部分である。一方、パルプ工場廃水の排水量は農林水産技術会議の資料によれば、多くの工場では1万~10万立方米/日であり、中でも5万~8万立方米/日のものが多い。したがって、魚類および貝類に急性毒作用を与えないためには60万~100万立方米/日の水量が、また慢性的な毒作用を与えないためには300万~2,000万立方米/日の水量が必要である。多くのパルプ工場廃水の流入する河川では、パルプ廃水の影響として認められているB. O. D、浮遊物質、毒性物質による影響の中で毒性物質についてのみ考えても殆どの河川で漁業被害が現われる可能性が多いことを示している。

一方、海域においては、流入した廃水はその海水との比重差のために海表面に薄く拡がり、その水量に応じた面積に分布するが、その分布範囲の中での稀釈は新田によれば60~100倍である。これは魚貝類に影響を与える濃度であるが、その廃水の層の厚さは極めて薄く1m以内であるといわれている。したがって、魚貝類に生理学的な影響を与える条件をそなえている所は排水口の極く近い区域に限定

される。しかし、魚貝類の中で魚類は移動力を持っているので魚の逃避による減少は見のがすことができな。したがって、海域では斃死、死滅による漁業被害は少なく、魚類の逃避による被害が漁獲の減少および漁場の移動となって現われる可能性が大きい。河川においてもこのような現象による影響が考えられるが、河川では魚類の逃避が生じても場所が極限されている点を考えて、むしろ生理学的な影響による被害が大きいものと推定される。河川においても河口近くのいわゆる感潮河川では、河川と海域における被害の性格を兼ねそなえているものと推察される。

このような水産生物に対する廃水の生理学的影響から推論した結果と実際の漁業被害との関連を見るために、昭和31年度の水産庁の調査による漁業被害に関する資料から求めた被害状況の内訳を6-10表に示す。

被害件数の内訳は河川がやや多いが、河川で生じている被害の中で斃死による被害が27%であるのに対し、

6—10表 昭和31年度パルプ廃水による  
漁業被害例の内訳  
被害件数の内訳

河川 57%	海 43%
-----------	----------

河川における斃死件数の割合

斃死 27%	その他斃死以外の被害 73%
-----------	-------------------

海における斃死件数の割合

斃死 13%	その他斃死以外の被害 87%
-----------	-------------------

斃死件数の内訳

河川 68%	海 32%
-----------	----------

(水産庁資料による)

て海域では13%となっている。

この関係を明示するために斃死による被害件数の内訳を見ると、全体の68%が河川で起っており、海域では32%に過ぎない。ここで、斃死以外の被害はすでに2—1図に示したように、魚介類棲息不能、漁獲減少、魚類散逸、成長不良、繁殖阻害、商品価値の低下などであって、ここで示されている漁業被害から見た河川および海域における廃水の影響の性格の相異は本研究の結果から推定した性格の相異と極めて類似している。

一方アサクサノリについては、廃水の必要稀釈倍率は12～80倍となり比較的低い。これは多くの河口域および海域において稀釈可能な倍率である。したがって、廃水の直接的影響による被害は現われにくいものと解されるが、ノリの成育は天候その他の自然条件の変動および病害の発生による被害が多く、それらは廃水によるノリの不健康化によってより生じ易い。

本研究の結果からパルプ廃水の影響によってノリの栄養塩代謝、細胞呼吸に障害が生ずることが明らかとなった。これらの障害がノリの不健康化の原因となることは容易に推察できるが、自然変動による成育の変化状態および病害についての基礎的研究が発展しない限り、この被害に関する検討は困難である。

このようなパルプ工場廃水による水産生物の影響は廃水中に含まれる毒性物質である樹脂成分およびその関連物質による所が大きい。このほかにパルプ工場廃水は多量の有機物を含むのでB. O. Dが高く、そのために河川において溶存酸素量の減少、海域においては有機物の沈澱によって生ずる硫化水素の影響などが認められている。<sup>2)</sup> 一般にパルプ廃水については、これらのB. O. Dおよび沈澱による影響がしばしば考慮の対象となっており、特に廃水の浄化についてはその多くが有機物を対象として関心が払われている。毒性物質については僅かに河辺・富山の<sup>57-61)</sup> 研究があるにすぎない。しかし、本研究の結果から廃水中に含まれる毒性物質にもより多くの関心が払われ、水産生物に対する被害を防除するための廃水の管理は有機物の問題以上に毒性物質についても考慮が払われるべきである。このためには、工場の規模、廃水の流入する水域の水理学的、化学的および生物学的特性に応じた廃水の管理を行なうことが必要である。一方、廃水の処理が行ない易い点ではクラフト法が有利であるので、今後のパルプ工業の発展はクラフト法によって行なわれることが望ましい。

## 10 水産技術の上から見た防除策

廃水による水産業上の被害の防除対策としては、廃水の処理その他工場側の処置は勿論必要であるが、産業の両立共栄を図るためには水産側においても水産技術の上での防除対策がなされるべきである。

魚類を対象とした漁業は主として自然環境に棲息するものを漁獲するために、その対象となる魚類に対して人為的な対策を講ずることはできないが、養殖業の中にはその生産管理を人為的に行なうことができるものもある。現在海面における水産技術の上で最も発展している養殖業は真珠養殖を除いてはカキとアサクサノリ養殖業である。

カキ養殖の方法は現在主として二種の方法によって行なわれている。すなわち、筏による垂下式法と、「杭打ち」と呼ばれている簡易垂下式法である。

カキの養殖場では最も合理的に行なわれている所でも筏式と簡易垂下式とを併用しており、また所によっては簡易垂下式のみによって実施している所もある。

廃水の海域における分布は表面に薄く拡がるので、筏式の場合は高濃度の廃水の波及があってもカキは廃水に触れることなく安全に飼育できる。これに反して、簡易垂下式では廃水に触れた後干出すような悪条

件が連続して与えられることになり、廃水の影響をより強く受ける結果となる。このような理由で、廃水の波及する海域においてカキの養殖を行なうに当っては筏式による垂下式法を用いて実施すれば廃水の被害を防除あるいは軽減することが可能となる。

一方、アサカサノリの養殖方法は現在竹筏、浮筏、および網筏によって行なわれている。

ノリは主として浅海および河口において養殖が行なわれているが、干潮時には干出し、満潮時には水中に入っている。浅海および河口における廃水の分布は満潮時にはその分布面積が狭く、干潮時に広がるために廃水口の近くを除いては満潮時は清浄な海水が分布するが、干潮時には廃水が波及するといった条件の水域が多い。したがって、ノリの浮筏および網筏については干潮時の廃水が波及する折にはすでに干出し、満潮に向って廃水が去った後水中に入るように筏を設置することが可能である。勿論、干出時間はノリ養殖上の重要な要素であり、廃水に対する考慮を払うと最適の干出時間を与えることができなくなるかも知れない。しかし、廃水の影響による減産と比較すれば、被害は著しく軽減されるものと推察される。したがって、廃水の波及する、あるいは波及する恐れのある水域においてノリ養殖を実施するに当っては、人為的な管理の可能な浮筏および網筏を用いて、廃水の状態を考慮に入れた管理を行えば廃水の被害を防除あるいは軽減することが可能であろう。

本研究によって認められたように、バルブ廃水による水産生物の受ける影響は非常に低濃度ですでに認められている。この影響を受けないようにするためには廃水の浄化に期待する所が大きいが、現在の段階では完全にこれが実施されるためには、まだ多くの問題がある。このような意味からも水産技術の上で可能な防除策は積極的に実施して行くことが必要である。

## 摘 要

1) 本研究によって明らかにされた水産生物の生理学的影響から見て、バルブ廃水の水産生物におよぼす影響の基本的問題について論じた。

2) バルブ廃水の水産生物に対する影響の本質は、バルブ廃水中に含まれる樹脂成分による中毒が最も大きな原因であり、この影響によって水産生物体内に種々の生理学的変化が生ずる。これらの変化は水産業上現われる被害と密接な関係があることを推論した。

3) バルブ廃水の水産生物に対する毒作用には、急性毒作用と慢性毒作用があることを明らかにし、毒作用の現われ方によって水産業上の被害の現われ方が異なることを推論した。

4) 生理学的影響と生態学的影響との間には密接な関係があることを明らかにし、水産生物に対する廃水の影響を検討するに当っては、従来行なわれている生態反応の異常による評価のみでなく生理学的な検討をも併行する必要性を論じた。

5) バルブ製造工程の相異によって廃水の水産生物に対する毒性に相異があることを明らかにし、現在主として行なわれているクラフト法およびサルファイト法について検討を加え、廃水の毒性としてはクラフト法の方が高いが、放流される廃水濃度、浄化法の容易さなどの点からクラフト法の普及が今後のバルブ工業の発展のために必要であることを論じた。

6) バルブ廃水の魚類に対する影響において、海産魚と淡水魚では影響の受け方に相異があることを見出し、その相異は生物学的性質のみでなく棲息環境の相異が関係していることを示し、海産魚と淡水魚を同一視することができないことを明らかにした。

7) バルブ廃水の水産生物に対する安全濃度について論じ、従来から行なわれている(48時間 TLm)×0.1の適用は適当でないことを明らかにし、TLm×0.025~TLm×0.05の式によって安全濃度を評価すべきであることを提言した。

8) 現在放流されているバルブ廃水は水産生物に被害を与える可能性の高いものであることを確認し、河川において生じている被害は主として生理学的影響によって生じており、また海域においては生態学的影響によって生じていることを推論した。また、廃水の影響を防除するためには廃水の浄化に際して廃水中に含まれる毒性物質を考慮すべき必要性を論じたほか、水産技術上からも廃水の被害防除策を攻究すべきであるこ

とを論じた。

## 総 括

1) 近年工業の発達と共に各種産業廃水の水産業におよぼす影響が増加し、中でもパルプ廃水による影響が最も大きいので、パルプ廃水について検討した。

2) 従来、パルプ廃水の水産業におよぼす影響の検討は、水理学のおよび化学の見地から行なわれているものが多く、生物学的な面での検討はあまり行なわれていない。殊に、水産生物に対する生理学的影響についての検討は殆んど行なわれていない。廃水の影響を総合的に評価するためには水産生物の生理作用にばす影響を把握することが不可欠の要素であるので、パルプ廃水の魚類、貝類および藻類におよぼす生理学的影響について研究を行なった。

3) 魚類に対する影響を評価するために、血液および血清の変化、主要器官の病理組織学的および細胞化学的变化、主要器官内脱水素酵素反応について研究を行なった。

4) 血液学的および血清学的研究結果から認められるものは、パルプ廃水の低濃度における影響は窒息症状であり、高濃度においては貧血および血液性状主として赤血球低抗、血清蛋白組成に大きな変化があり、循環器系に対するパルプ廃水の影響は大きい。

5) 病理組織学的および細胞化学的研究結果から認められるものは、低濃度においては鰻の粘液分泌昂進肝細胞のグリコーゲンおよびRNAの減少、脾臓におけるRNAの減少、小腸粘膜上皮の粘液分泌昂進などを認め、高濃度においては鰻舟の壊死脱落による鰻の崩壊、肝細胞のグリコーゲンおよびRNAの消失、脾臓内RNAの消失、肝臓内胆管、動脈、門脈の変化、脾臓の解離、脾臓内出血、腎臓内細尿管の壊死脱落がある。この外、海産魚の小腸粘膜上皮には細胞の壊死脱落を認めた。主要器官内の赤血球には異常が認められ、血管系と腸以外の主要器官に現われた諸変化は血液の質的変化から惹起されると考察した。また小腸の変化は経口的に侵入した毒性物質によるものと解された。

6) パルプ廃水のコハク酸脱水素酵素反応に対する影響は肝臓に認められ、肝臓機能の低下を意味している。

7) パルプ廃水中に含まれる魚類に対する毒性物質の性質は、酸および塩化第二鉄のような凝集沈澱剤によって除去し得る部分に含まれ、廃水中の樹脂状物質による症状が廃水による症状と酷似しているので、樹脂成分が毒性物質の一つであると結論される。

8) 貝類に及ぼす影響を評価するために、代謝機障の基礎としてのカルシウム代謝におよぼす影響、細胞呼吸に対する影響を検討するための脱水素酵素反応におよぼす影響、主要器官の病理組織学的および細胞化学的影響に関する研究を行なった。

9) パルプ廃水によってカルシウム代謝は著るしく低下される。この低下は短時間内においては貝の閉殻による海水の貝体内流入の停止によって生ずる。したがって、カルシウム代謝のみでなく、他の栄養代謝もこのために阻害される筈である。長時間の場合は、代謝に関する生理機能が影響され代謝作用の減退が認められる。

10) 貝体内におけるコハク酸脱水素酵素反応はパルプ廃水によって大きく阻害される。これは貝体の細胞呼吸作用の低下を示すもので、その生理作用に大きな影響がおよんでいることを示すものである。

11) 主要器官に対する病理組織学的および細胞化学的影響は、胃、腸、消化盲嚢、鰓および体周阻結合織に顕著であり、特に鰓および消化盲嚢における変化が大きい。消化盲嚢内にRNAの著しい減少が見られるが、これは貝体の蛋白合成障害を意味する。

貝体に見られる症状は、廃水中の毒性物質によるものであって、その貝体内への侵入経路として消化管を経由する経路と、体表面からの侵入との両者を考えることができる。貝類に対する廃水中の毒性物質も魚類の場合と同様に凝集沈澱によって除去される物質であり、樹脂成分が大きく関与している。

12) 貝類は短時間内ではその貝殻の防御作用によってかなり高濃度の廃水の波及にも耐える得るが低濃度のものでも長時間の持続的な波及には抵抗性が弱いものと認められる。したがって、貝類についての廃水問題を考慮するに当ってはこの特性を考慮に入れて処置すべきであり、また貝類に対する影響の生物学的判定

は長時間に亘って行なうことが必要である。

13) 藻類については、アサクサノリが水産業上最も重要なものであるので、これを研究対象として選定して廃水の影響を検討した。

14) 藻類への影響の評価方法として磷同化作用に対する影響、細胞内脱水素酵素反応に対する影響、および細胞の枯死に対する影響を検討した。

15) アサクサノリに対するバルブ廃水の影響は、低濃度においては栄養塩代謝および細胞呼吸に影響を与え、また高濃度では細胞を枯死させるが、実際に廃水が波及する水域においてはその影響濃度から見て廃水の直接的影響として枯死を考えることはできない。

実際の漁業被害としてしばしば認められるノリの枯死は生理機能の低下した際における自然環境条件の変動などの悪条件の相乗作用の結果と推察される。

また、廃水によるノリの品質低下も栄養塩代謝の低下によって生ずるものであろうと推論した。したがって、ノリのバルブ廃水による生理作用の障害はノリの生活の基礎的条件に対する影響であるので、影響としては高く評価されねばならない。

16) 本研究によって明らかにされた水産生物に対する生理学的影響の結果から、バルブ廃水の水産生物におよぼす影響の基本的問題について論じた。

17) バルブ廃水の水産生物に対する影響の本質は、廃水中に含まれる樹脂成分およびその関連物質による中毒が最も大きな原因であり、この影響によって水産生物体内に種々の生理的変化が生ずる。これらの変化は水産業上現われる被害と密接な関係があることを推論した。

18) バルブ廃水の毒作用には急性毒作用と慢性毒作用があることを明らかにし、毒作用の現われ方によって水産業上の被害の現われ方が異なることを推論した。

19) 生理学的影響と生態学的影響との間には密接な関係があることを明らかにし、水産生物に対する廃水の影響を検討するに当たっては、従来行なわれている生態反応の異常による評価のみでなく生理学的な検討をも併行する必要性を論じた。

20) バルブ製造工程の相異によって廃水の水産生物に対する毒性に相異があることを明らかにし、現在主として行なわれているクラフト法およびサルファイト法について検討を加え、廃水の毒性としてはクラフト法の方が高いが、放流される廃水濃度、浄化方法の容易さなどの点からクラフト法の普及が今後のバルブ工業の発展のために必要であることを論じた。

21) バルブ廃水の魚類に対する影響には海産魚と淡水魚とでは影響の受け方に相異があることを見出し、その相異は生物学的性質のみでなく、棲息環境の相異が関係していることを示し、海産魚と淡水魚を同一視することができないことを明らかにした。

22) バルブ廃水の水産生物に対する安全濃度について論じ、従来から行なわれている(48時間 TL<sub>m</sub>) × 0.1の適用は適当でないことを明らかにし、TL<sub>m</sub> × 0.025 ~ 0.05の式によって安全濃度を評価すべきであることを提言した。

23) 現在放流されているバルブ廃水は水産生物に被害を与える可能性の高いものであることを確認し、河川においては生じている被害は主として生理学的影響によって生じており、また海域では生態学的影響によって生じていることを推論した。廃水の影響を防除するためには、廃水の浄化に際して廃水中に含まれる毒性物質を考慮すべき必要性を論じた外、水産技術の上からも廃水の被害防除策を攻究すべきであることを論じた。

## 文 献

- 1) 新井正治：魚類肝臓の形態とその脈管系 成医会誌 64(1) 920 (1950)
- 2) 荒川 清：底質における有機物の發酵について 内海区水研報報告 第6号 (1954)
- 3) Bacq, Z. M. & Alexander, P: Fundamentals of Radio biology.

Butterworths Scientific Publication (1955)

- 4) Besselièvre, E. B. : Industrial waste treatment. McGraw-Hill Book Co., Inc. (1952).
- 5) Brachet, J. : Biochemical Cytology. Academic Press Inc. (1957)
- 6) Brandon, T. W. : Waste water from beat sugar factories ; their treatment and disposal.  
Intern. Sugar J., 49, 98 (1947)
- 7) Corbet, A. S. & Wooldridge, W. R. : The nitrogen cycle in biological system.  
Biochem. J. 34, 1015 (1940)
- 8) Curtis & Clark : Introduction to plant physislogy. McGraw-Hill Co. (1950)
- 9) Dorris, T. C. : Toxicity bioassay of oil refinery effluents in Oklahoma.  
Western Petroleum Refiners Association (1958)
- 10) Doudoroff, P. : Bioassay method for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish. Sewage & Industrial Wastes. Vol. 23, No. 11 (1951)
- 11) ————— : Some experiments on the toxicity of complex cyanids to fish.  
Sewage Industrial Wastes. Vol. 28, No. 8 (1956)
- 12) ————— : Avoidance reaction of Salmonoid fish to pulp mill effluents.  
Sewage & Industrial Wastes. Vol. 28, No. 11 (1957)
- 13) Downing, A. L. : The effect of synthetic detergents on the rate of aeration in diffused air activated sludge plants. Water & Waste treatment J. 1, 102 (1958)
- 14) Downing, K. M. : The influence of temperature on the survival of several species of fish in low tentions of disolved oxygen. Ann. appl. Biol. 45, 261 (1957)
- 15) 愛媛県水試 : 工場廃液に関する調査 昭和11年愛媛県水試報告 (1938)
- 16) Eldridge, E. F. : Pulp and paper mills pollution Problems. Information series No. 8 (1955)
- 17) Finney, D. J. : Probit analysis. Cambridge Univ. Press (1952)
- 18) 藤谷 超 : 工場廃水中における浮游藻類の成育 内海区水研報告 第6号 (1954)
- 19) ———— : 各種汚濁水の牡蠣に及ぼす影響 内海区水研報告 第7号 (1955)
- 20) ———— : 産業廃水に依る魚類の死因判定に関する研究 内海区水研報告 第10号 (1957)
- 21) 藤谷 超・千国史郎 : 産業廃水のノリに及ぼす影響に関する研究 内海区水研報告 第11号 (1958)
- 22) ———— . ———— : 産業廃水の魚類に及ぼす影響に関する研究 内海区水研報告 第11号 (1958)
- 23) ———— . ———— : 産業廃水の貝類に及ぼす影響に関する研究 内海区水研報告 第11号 (1958)
- 24) ———— . ———— : 各種方法による廃水のノリに及ぼす影響の比較 水産増殖 7(3) (1960)
- 25) 藤谷 超・新田忠雄 : 魚類の嫌忌量に関する研究 内海区水研報告 第3号 (1953)
- 26) Fujiya, M. : Studies on the effects of the tailings of flotation process to the coastal organisms. Jop. Soc. of Scientific Fisheries. Vol. 26. No. 10. (1960)
- 27) ———— : Use of electrophoretic serum separation in fish studeis.  
Water Pollution Control. Federation J. Vol. 33, 3 (1961)
- 28) 福田博業 : 魚体コハク酸脱水素酸素に関する研究—I 日本水産学会誌 Vol. 23, No. 9 (1957)
- 29) 福岡県水試 : 汚濁水調査 昭和11年福岡県水試報告 (1938)
- 30) Galtsoff, P. S. : Environmental requirements of oyster in relation to Pollution.  
Proceedings. N. American Wildlife Conference. Fel. (1936)
- 31) ———— : Ecological and physiological studies of the effect of sulfate pulp mill wastes on oyster in York river, Verginia. Fish. Bull. 51 : 58~186 (1947)
- 32) 岐阜水産会 : 工場廃水の魚類に及ぼす影響試験  
昭和3年度業務成績報告 第6巻1号 (1929)  
昭和4年度業務成績報告 第7巻 (1930)  
昭和8年度業務成績報告 (1934)

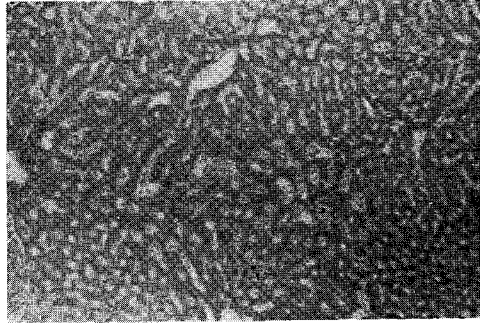
- 33) 岐阜水産会：工場廃液調査 昭和9年度業務成績報告 (1935)
- 34) Glick, D. : Techniques of histo- and cyto-chemistry. Interscience Pub (1949)
- 35) Grandeau : La soudier de Dieuze. Paris. (1872)
- 36) Grindley, J. : Toxicity to rainbow trout and minnows of some substances known to be present in waste water discharged to river. Ann. appl. Biol. 33, 103 (1946)
- 37) 群馬県水試：吾妻川水質汚濁調査 昭和7・8年度群馬県水試報告 第2号 (1934)
- 38) Henderson, C. : Application factors to be applied to bioassay for the safe disposal of toxic wastes. Biological Problem in Water Pollution U.S. Dept. of Health, Education & Welfare (1957)
- 39) ———— : Bioassay for control of industrial effluents. Sewage & Industrial Wastes. Vol. 29, No. 9 (1957)
- 40) Herbert, D. W. M. : Measurement of the toxicity of substances to fish. Institute of Sewage Purification, January (1952)
- 41) ———— : Measuring the toxicity of effluents to fish. Analyst, 90, 896 (1955)
- 42) Harvey, H. W. : On the rate of diatom growth. J. of Mar. Biol. Assoc. Vol. 19, 253 (1933)
- 43) ———— : The chemistry and fertility of sea water. Cambridge Univ. Press. (1955)
- 44) 兵庫県水試：異常水質調査  
大正15年度昭和元年度水試業務功程 (1927)  
昭和2年度水試業務功程 (1928)
- 45) 五十嵐彦仁・八田良逸：泥土の水族に及ぼす障害に就いて 北水試旬報 No. 560 (1943)
- 46) 今泉 正：組織化学および細胞化学 白水社 (1954)
- 47) Itikawa, O. et al : A Histopathological Study of Equine Infections Anamia with Needle Biopsy Material, Especially a Cytochemical and Phase-Microscopic Observation. Exper. Rep. No. 29 of Governmental Exper. Sta. for Animal Hygiene (1955)
- 48) 市川 収：細胞化学 本田書店 (1953)
- 49) ———— : LD<sub>50</sub>より見たるグルクロン酸システイン製剤としての強力ミノファーゲンの解毒能について。東京医事新誌 68(2) (1952)
- 50) ———— : 生体内脱水素酸素反応の解析 細胞化学シンポジウム No. 4 日本細胞化学会編 (1956)
- 51) 香川県水試：有害物質の水族に及ぼす影響に関する試験 昭和8年度香川県水試事業報告 (935)
- 52) ———— : 鮎の硫酸に因る斃死と肝臓の色について 昭和9年度香川県水試事業報告 (1936)
- 53) 狩谷貞二：魚類の赤血球抵抗について 第一報 日本水産学会誌 Vol. 15, No. 11 (1950)
- 54) ———— : 魚類の赤血球抵抗について 第二報 日本水産学会誌 Vol. 16, No. 1 (1950)
- 55) 加藤 博：血液学の基礎 南江堂 (1931)
- 56) 加藤勝治・福武勝博：生理学講座 第8巻I 生理学講座刊行会 (1951)
- 57) 河辺克己・富山哲夫：工場廃水の浄化に関する研究—I 日本水産学会誌 Vol. 20, No. 8 (1954)
- 58) ———— : 工場廃水の浄化に関する研究—II 日本水産学会誌 Vol. 20, No. 8 (1954)
- 59) ———— : 工場廃水の浄化に関する研究—III 日本水産学会誌 Vol. 20, No. 12 (1955)
- 60) ———— : 工場廃水の浄化に関する研究—IV 日本水産学会誌 Vol. 20, No. 12 (1955)
- 61) ———— : 工場廃水の浄化に関する研究—V 日本水産学会誌 Vol. 21, No. 1 (1955)
- 62) 川本信之：魚類生理学 石崎書店 (1956)
- 63) 北森良之介・小林真一：汚濁水域の底棲生物—I 内海区水研報告 第11号 (1951)
- 64) 小林 博：アコヤガイの環境変化に対する抵抗性の研究 水講研究報告 第4巻1号 (1955)
- 65) 小宮悦造：臨床血液学 南山堂 (1956)



- 66) 小宮甘美：血液の病的状態 生理学講座 第8巻 (1951)
- 67) Kurnick, N. B.: Pyronin Y in the Methyl-Green-Pyronin histological stain.  
Stain Technology Vol. 30, No. 5 (1955)
- 68) Lloyd, R. : The toxicity of zinc sulphite to rainbow trout. Ann. appl. Biol. 48, 84(1960)
- 69) Macadon, S. : On the poisonous nature of crude paraffin oil and the products of its  
rectification upon fish. Rept. Brit. Assoc Adv. Sci. 36 (1866)
- 70) 町田喜弘：急性毒を評価するための生物学的試験法 水産増殖 3(2) (1955)
- 71) 松井魁他：鯉の薬物に対する反応について 水産研究誌 Vol. 35, No. 9 (1949)
- 72) 増山元三郎：小数例の纏め方と実験計画の立て方 河出書房 (1949)
- 73) 松江吉行：海産浮游珪藻“スケルトネマ”の培養 水産学の概観 日本学術振興会 (1954)
- 74) ———：産業廃水の有害性とその水産生物への影響 化学技術 Vol. 13, No. 16 (1959)
- 75) ———：水質汚濁調査指針 恒星社厚生閣 (1961)
- 76) 宮地伝三郎：沿岸水の汚染と底棲群像 水産研究誌 Vol. 32, No. 9 (1938)
- 77) 宮木高明：薬品化学 南江堂 (1955)
- 78) 森 五彦・小林茂三郎：沪紙電気泳動法の実際 南江堂 (1956)
- 79) 南江堂編：推計学の化学および生物学への応用 (1955)
- 80) ———：アイトソープ実験技術 (1956)
- 81) 新田忠雄他：工場廃水に関する研究 内海区水研報告 第3号 (1953)
- 82) 新田忠雄・竹内 脩：都市廃水の研究 内海区水研報告 第6号 (1954)
- 83) 新田忠雄：水質保護論 恒星社厚生閣 (1960)
- 84) 日本鉱業協会編：水質基準 (1957)
- 85) 農林省水産局：水質保護に関する調査 (1932)
- 86) 農林水産技術会議：水質汚濁に関する研究 昭和32年度中間報告 (1959)
- 87) 尾形英二・永井 進：藻体細胞の硝酸銀反応について 日本水産学会誌 Vol. 19, No. 6 (1953)
- 88) 尾形英二：ヒトエグサの傷害生死の徴候について 日本水産学会誌 Vol. 22, No. 7 (1956)
- 89) ———：アサクサノリおよびヒトエグサの傷害度とT. T. C還元量との関係  
日本水産学会誌 Vol. 22, No. 7 (1956)
- 90) ORSANCO: Aquatic life water quality criteria.  
Sewage & Industrial Wastes Vol. 27, No. 3 (1955) Vol. 28, No. 5 (1956)
- 91) Pearse, A. G. E.: The nature of Russell bodies and Kurloff bodies.  
J. Clin. Path., 2: 81 (1949)
- 92) Powers, E. B. : The gold fish as a test animal in the study of toxicity.  
Illinois Biol. Monograph 4, 2 (1917)
- 93) Rosin, A. : Pyroninophilic structure of liver cells in carbon tetrachloride poisoning.  
Proceedings of the Society for experimental Biology. 62: 62 (1946)
- 94) 芥藤正行：光電比色計による臨床化学検査 南山堂 (1953)
- 95) 芥藤 要：魚類血液の生化学的研究 日本水産学会誌 Vol. 22, No. 12 (1957)
- 96) 佐野 孝：養殖海苔の色沢変化に関する研究 東北海区水研報告 第4号 (1957)
- 97) 皿井長四郎：魚類肝臓の形態学的研究 成医会誌 64(3) (1950)
- 98) Seligman, A. M. : The histo-chemical determination of succinic dehydrogenase.  
Science, 113: 317—320 (1951)
- 99) 柴田三郎：水質汚濁とその処理法 水産庁水産試料整備委員会 (1954)
- 100) 柴田玉城：魚類血液の比較研究 水産研究誌 30(1) (1935)
- 101) 滋賀県水試：工場排水の水族に及ぼす影響調査 昭和2—4年度滋賀水試報告 (1929)

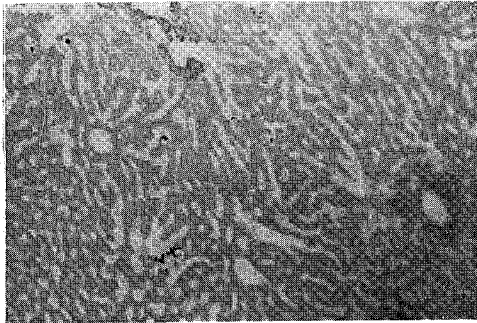
- 102) Southgate, B. A. : Treatment and disposal of waste water from paper mills.  
Proc. Papermakers Assoc. 26, 339 (1945)
- 103) Southgate, B. A. : Water Pollution Research. British Science News. 3, 11 (1950)
- 104) ————— : Waste disposal in Britain. Industrial Engineering Chem. 44, 524 (1952)
- 105) ————— : Recent development in control of stream pollution.  
Surveyer, 115, 349 (1956)
- 106) Schants, E. L. : Purified shellfish poison for bioassay standardization.  
J. of the Association of Official Agricultural Chemists. 160~168 (1958)
- 107) Steinmann, P. : Toxikologie der Fische.  
Handbuch. Binnenfischeres Mitteleuropas. 6, 289—342 (1928)
- 108) Stowell, R. E. : Histochemical studies of mouse liver after single feeding of carbon tetrachloride. Archives of Pathology. 50 : 519—537 (1950)
- 109) 赤築敬一郎・早山万彦 : 金属工場酸性廃水の水棲動物に及ぼす影響について  
水講研究報告 4(2) (1955)
- 110) 水産庁 : 最近における水質汚濁による水産業被害調査 (1955) (1957) (1959)
- 111) ———— : 昭和31年度水質委託調査資料 (1957)
- 112) 末広恭雄 : 魚類生理学の実際 竹内書房 (1949)
- 113) ———— : 魚類学 岩波書店 (1951)
- 114) 杉本仁弥・新田忠雄 : 工場廃水の分散について 内海区水研報告 第3号 (1953)
- 115) 杉本仁弥 : 玖波湾の工場廃水について 内海区水研報告 第6号 (1954)
- 116) 杉本仁弥・荒川 清・藤谷 超 : パルプ工場廃水のカキに及ぼす影響についての一例  
内海区水研報告 第6号 (1954)
- 117) Szanto, P. B., Popper, H. : Basophilic cytoplasmic material (Pentose Nucleic Acid) distribution in normal and abnormal human liver.  
Archiv. Pathol., 51 409—422 (1951)
- 118) 多賀信夫・田端健二 : 水産生物に及ぼすセメキカルパルプ廃液の有害性について (1958)
- 119) 高槻俊一 : 牡蠣 技報堂 (1949)
- 120) 高安三次 : 工業薬品の魚族に及ぼす影響に関する試験報告 北海道水試報告 (1924)
- 121) ———— : 工業薬品の魚族に及ぼす影響に関する試験 (第二報)  
北海道水産孵化場報告 10(2) (1955)
- 122) 田内森三郎・安田秀明 : 有毒物質の致死作用について 水講研究報告 24(1) (1928)
- 123) Thienemann, A. : Die Einwirkung von bei der Papierfabrikation verwendeten Forhstoffen auf Tierwelt des Wassers. Untersuch. d. Nahrungs. u. Genvssmittel, 22 (1911)
- 124) 辻井禎他 : 貝殻および真珠形成機序の Radioautography による研究, 特に  $Ca^{45}$  および  $P^{32}$  の分布について 日本水産学会誌 Vol. 20, No. 2 (1954)
- 125) 土屋靖彦 : ミジンコに対する硫黄化合物の毒性について 日本水産学会誌 Vol. 13, No. 3 (1947)
- 126) 敦賀花人・新田忠雄 : 海藻の生理化学的研究 III 内海区水研報告 第13号 (1960)
- 127) 富山哲夫 : 底土に含まれる硫化物の少量定量法 日本水産学会誌 Vol. 7, No. 5 (1942)
- 128) 富山哲夫・山川朝義 : 硫化物および亜硫酸塩の鯉に対する有害度におよぼす pH の影響  
日本水産学会誌 Vol. 15, No. 9 (1950)
- 129) 富山哲夫・井上 明 : 水族に対する汚濁物質の影響をみる試験装置について  
日本水産学会誌 Vol. 15, No. 9 (1950)
- 130) Tully, J. P. : Oceanography and prediction of pulp mill pollution in Alberni Inlet.  
Fish. Res. Bd. Canada, Bull. No. 18 (1949)

- 131) Vogel, J. H. : Die Abwasser der Kalundustrie. Berlin. (1913)
- 132) Waldichuck, M. : Report on pollution studies conducted in Western Canada.  
Biological Problem in Water Pollution, U. S Dept. of HEW (1960)
- 133) ————— : Pulp mill pollution in British Columbia. Fish. Res. Bd Canada (1960)
- 134) ————— : Effects of pulp mill waste in Alberni Harber.  
Fish. Res. Bd, Canada. Pacific Progress Report No. 101 : 23—26 (1954)
- 135) Warren. C. E. : The development of method for using bio-assays in the control of pulp  
mill waste disposal. Oregon Agr. Exp. St.
- 136) Weight, C. : Uber Schädichkeit der Fabrikabflüsse.  
Landwirthsch. Versuchs-Stationen, 24, 424—427 (1880)
- 137) Water Pollution Research Board : Water Pollution Research.  
Dept. of Scientific and Industrial Research, U. K. (1960)
- 138) 山口県水試 : 廃水調査 (1941)
- 139) 吉原友吉・阿部 博 : 毒物による魚介類の死亡—I 化学薬品による稚鯉の死亡  
日本水産学会誌 Vol. 21, No. 8 (1955)



正 常 魚

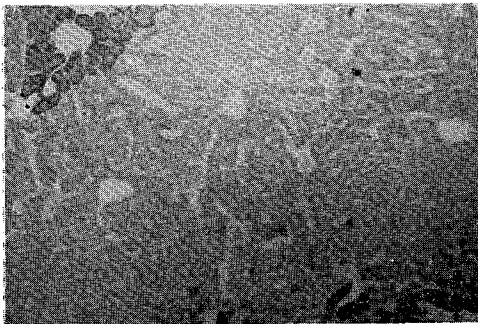
図 版 I  
活簀に飼育したクロダイの  
肝臓内RNAの変化  
(ピニロン・メチルグリー  
ン染色)



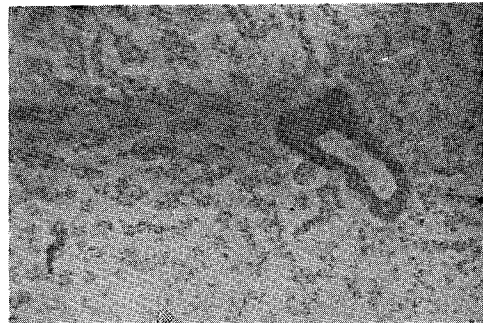
廃水口より 500m で飼育



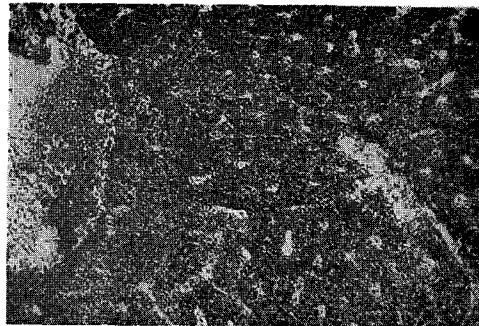
廃水口より 300m で飼育



廃水口より 300m で飼育

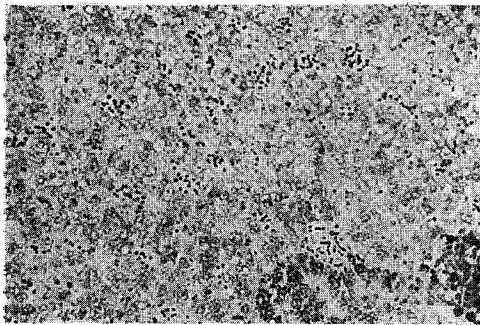


廃水口より 100m で飼育  
(全消失に近い)

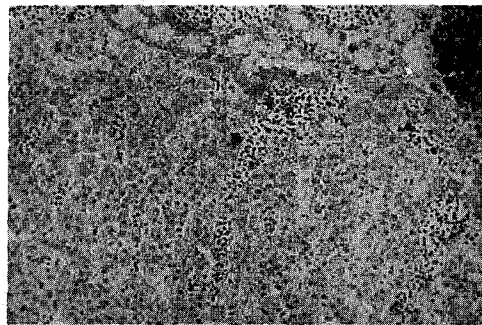


正 常 魚

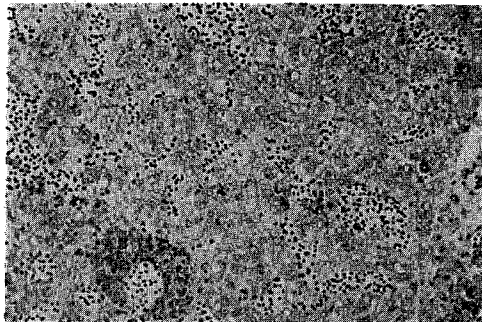
図 版 II  
活 簍 に 飼 育 し た ク ロ ダ イ の  
肝 臓 内 グ リ コ ー ゲ ン の 変 化  
(多 糖 類 反 応)



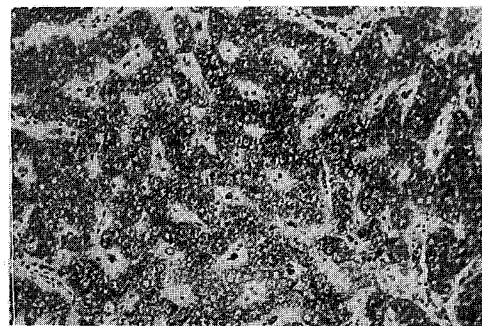
廃 水 口 よ り 100m で 飼 育  
グ リ コ ー ゲ ン は 全 消 失 に 近 い



廃 水 口 よ り 300m で 飼 育

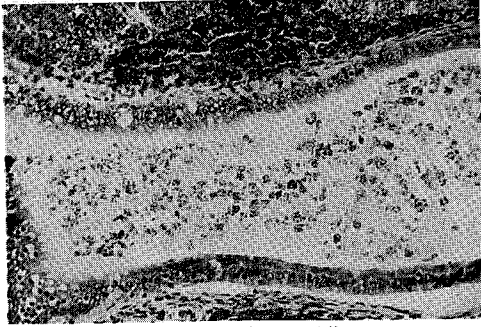


同 上

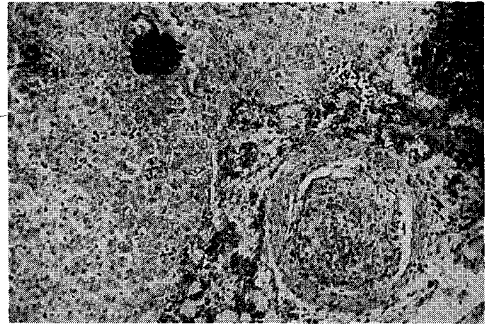


廃 水 口 よ り 500m で 飼 育  
毛 細 血 管 の 拡 張 が あ る

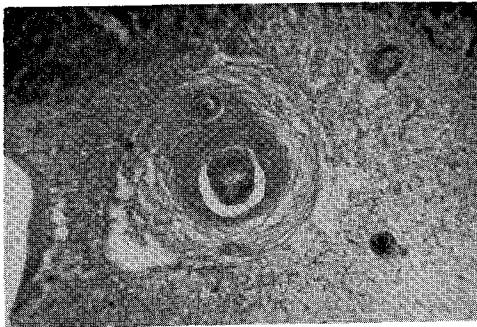
図版 III 胆管および肝臓内血管系に見られる変化 (クロダイ)



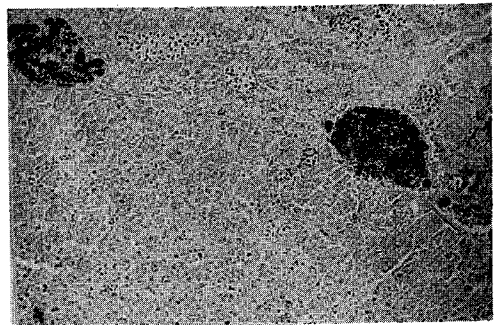
胆管上皮の壊死と脱落  
(多糖類反応)



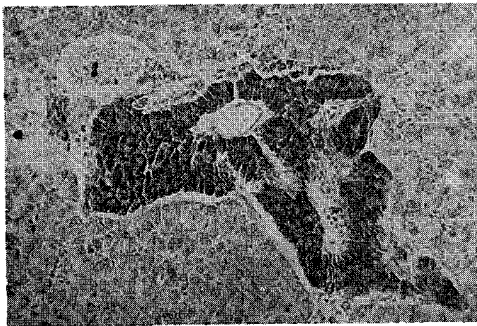
肝動脈内膜炎と器質化による栓塞  
(多糖類反応)



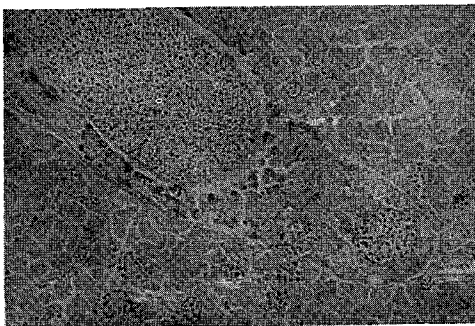
肝動脈中膜肥厚変性  
(ヘマトキシリン・エオシン染色)



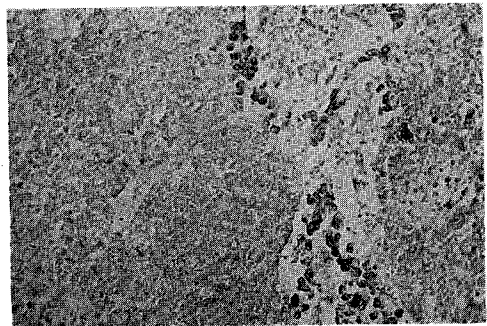
肝臓静脈の血鉄素栓塞  
(鉄染色)



正 常 魚



RNAの消失 (廃水口から100mで飼育)



脾 組 織 の 解 離

図版 IV

脾臓内RNAの減少と組織の解離

(クロダイ)

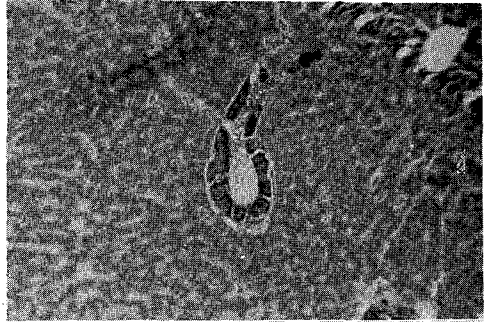
(ピロニン・メチルグリーン染色)



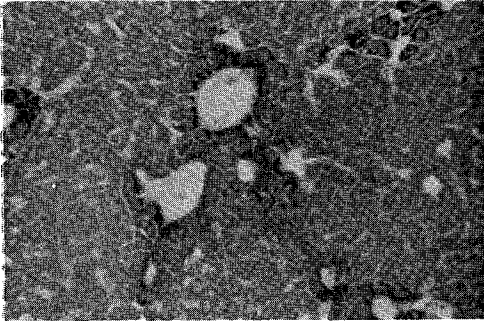
図版 V 肝臓に見られる変化



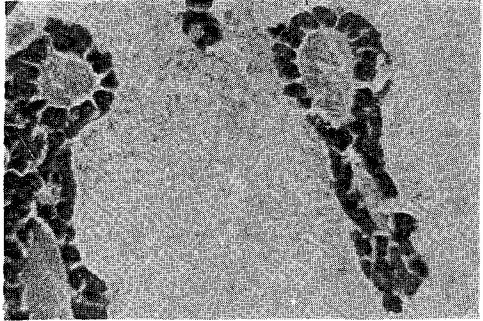
門脈からの出血 (クロダイ)  
(多糖類反応)



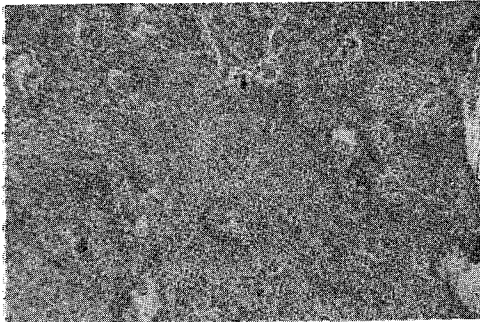
肝臓内脾臓周囲出血 (クロダイ)  
(多糖類反応)



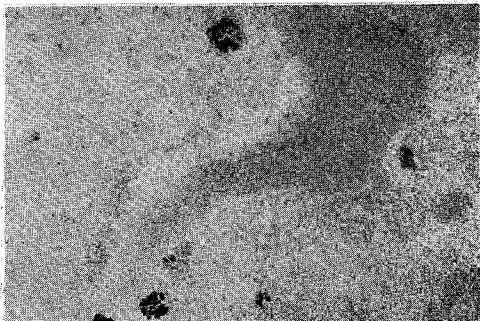
脾臓の解離と出血 (コイ)  
(多糖類反応)



脾臓の解離と肝臓内RNAの減少 (コイ)  
(ピロニン・メチルグリーン染色)



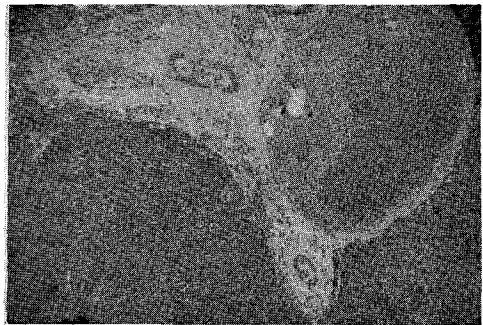
脾臓内出血  
(ヘマトキシリン・エオシン染色)



同 上

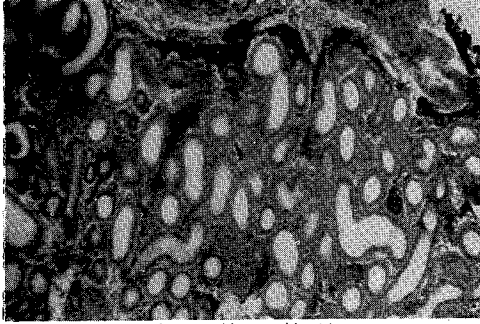
図版 VI

脾臓に見られる変化

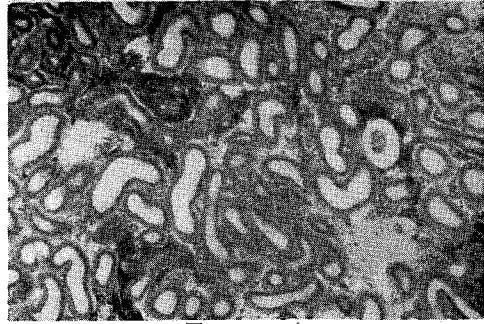


同 左

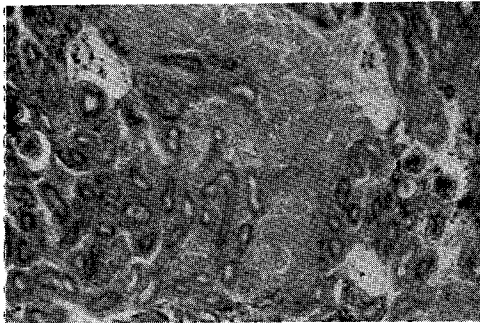
図版 VII 腎臓に見られる変化 (クロダイ)



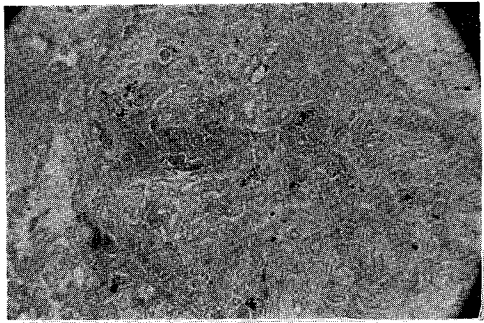
細尿管の拡張  
(ヘマトキシリン・エオシン染色)



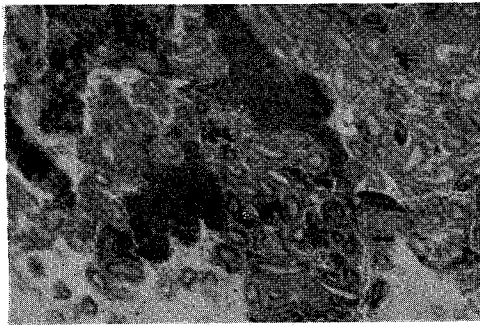
同 左  
(多糖類反応)



多糖類変性  
(ヘマトキシリン・エオシン染色)

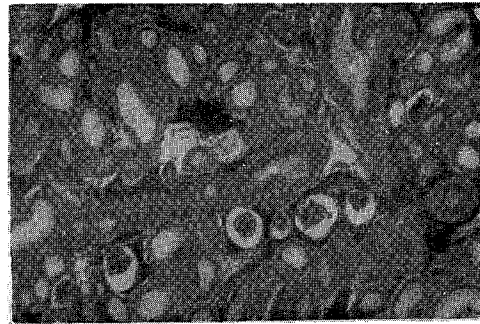


同 左  
(多糖類反応)

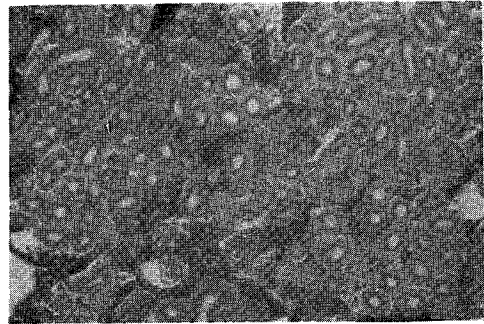


腎臓内出血  
(ヘマトキシリン・エオシン染色)

図版 VIII  
腎臓に見られる変化  
(コイ)



細尿管細胞核消失  
(ヘマトキシリン・エオシン染色)



同 左



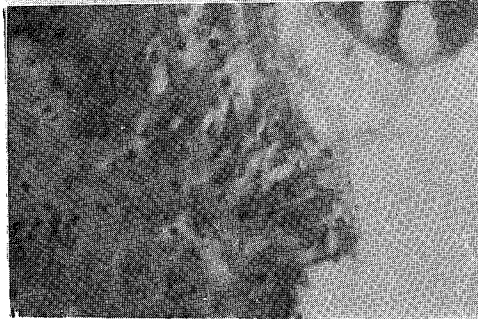
図版Ⅸ 腸に見られる変化(1) (クロダイ)



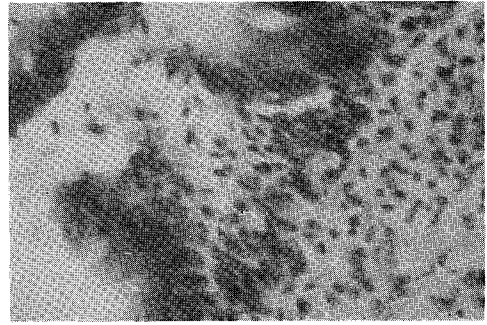
粘膜上皮細胞の壊死  
(ヘマトキシリン・エオシン染色)



粘膜上皮の剥離  
(ヘマトキシリン・エオシン染色)

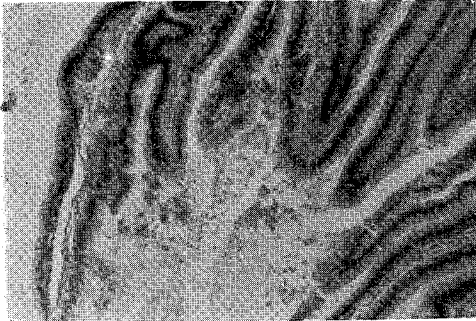


同 上

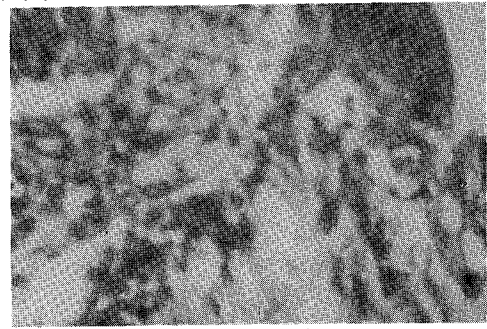


同 上

図版Ⅹ 腸に見られる変化(2) (クロダイ)



粘膜上皮細胞の壊死脱落  
(ヘマトキシリン・エオシン染色)



同 左

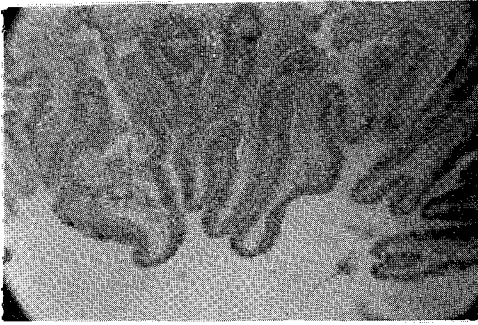


粘膜下織の変性(ヘマトキシリン・エオシン染色粘)

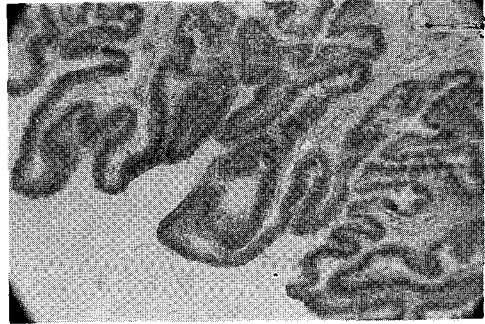


粘膜下織の水腫(ヘマトキシリン・エオシン染色)

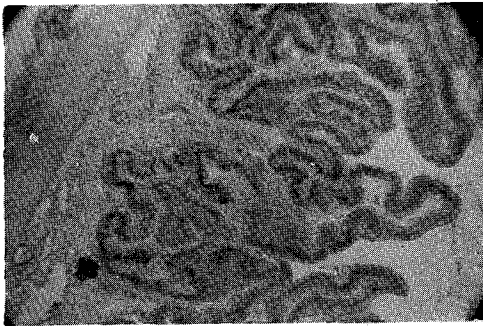
図版 XI 腸に見られる変化 (3)  
 (クロダイ)



正常魚の盃状細胞  
 (多糖類反応)



盃状細胞の分泌昂進  
 (多糖類染色)

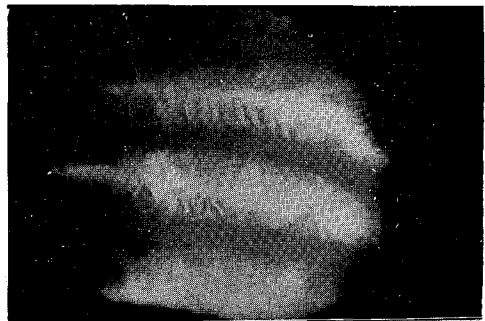


盃状細胞の分泌昂進  
 (多糖類反応)

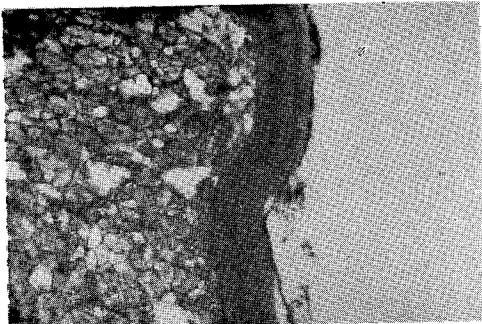


同 左

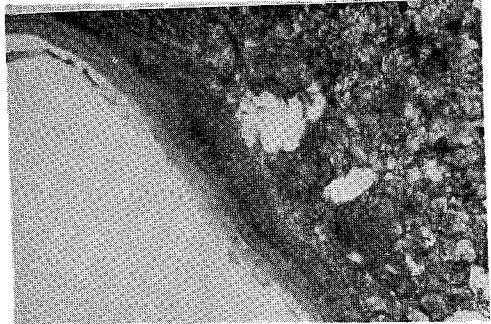
図版 XII 鰓葉の崩壊  
 (コイ)



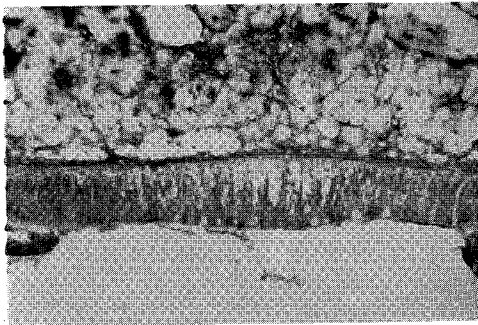
図版 XIII 胃に見られた変化(1) (マガキ)



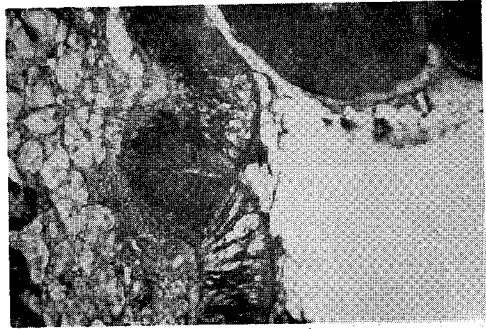
胃上皮の粘液分泌昂進と周囲結合織の空胞化  
(多糖類反応)



同 左



胃上皮細胞の壊死  
(多糖類反応)

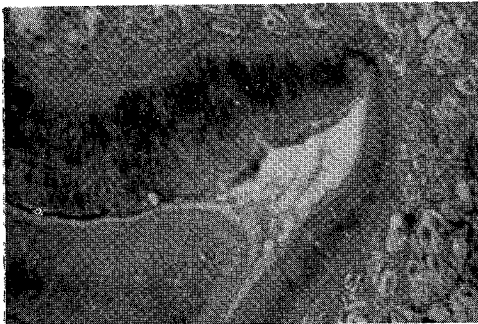


同 左

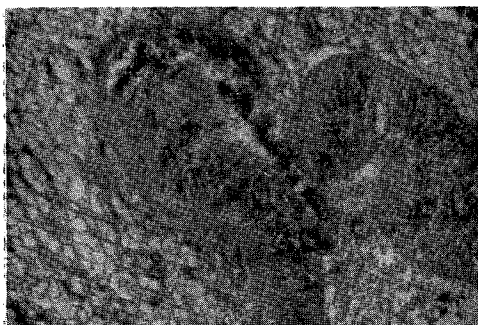
図版 XIV

胃に見られた変化(2)

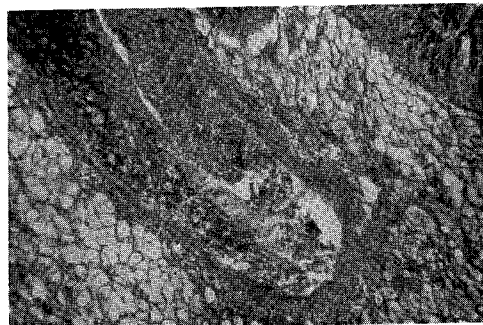
(マガキ)



胃の粘液分泌昂進 (多糖類反応)

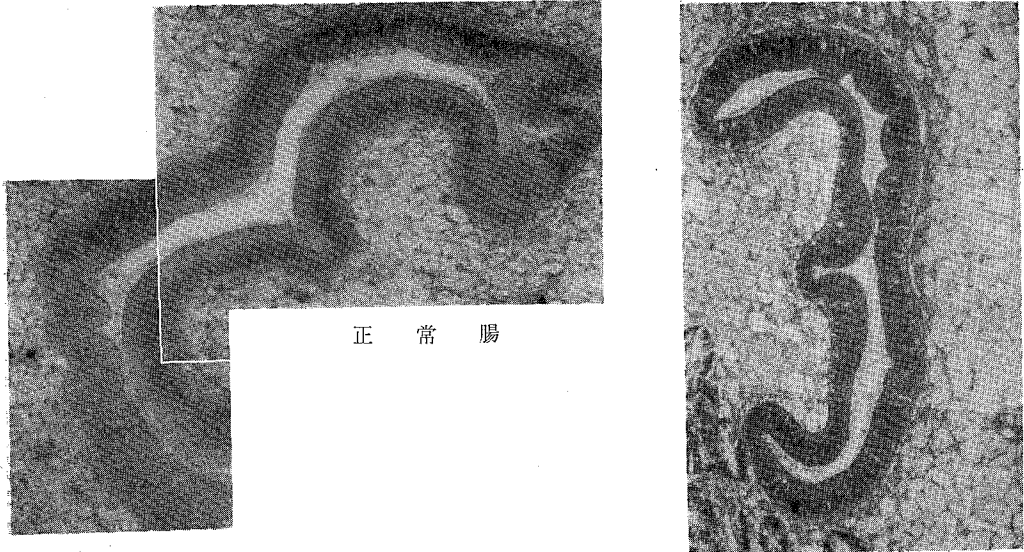


胃上皮細胞の壊死脱落 (多糖反応)



同 左

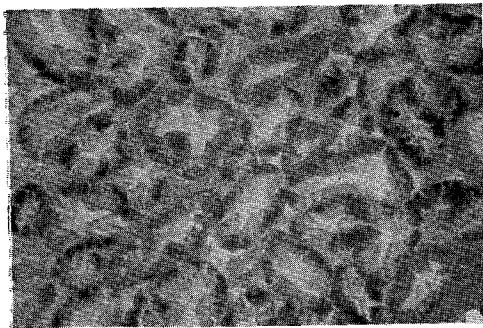
図版 XV 腸に見られた変化 (マガキ)  
(多糖類反応)



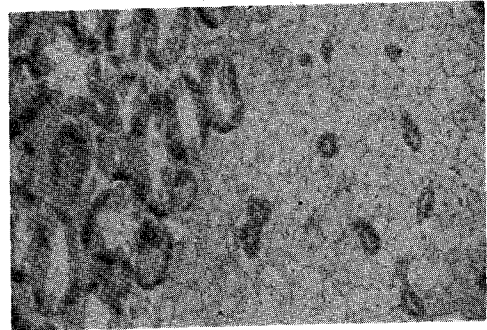
正 常 腸

影響を受けた腸  
上皮細胞の繊毛の脱落および壊死が見られる

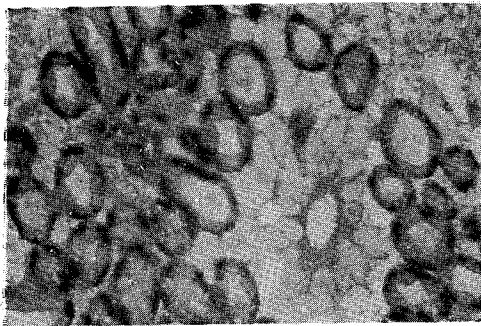
図版 XVI 消化盲囊に見られる変化 (マガキ)



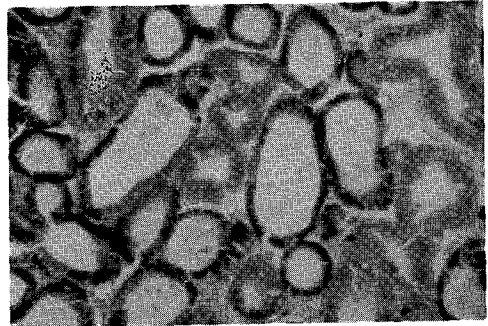
盲囊細管細胞の壊死 (軽度)  
(多糖類反応)



同 左



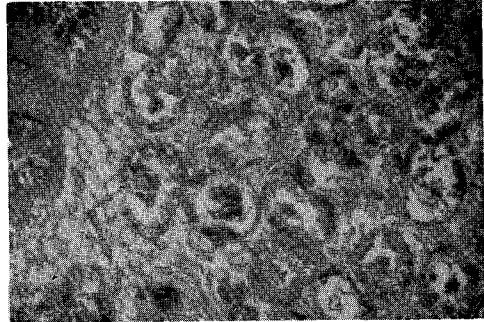
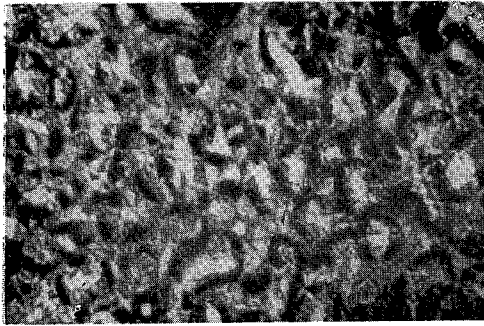
盲囊細管の拡張 (多糖類反応)



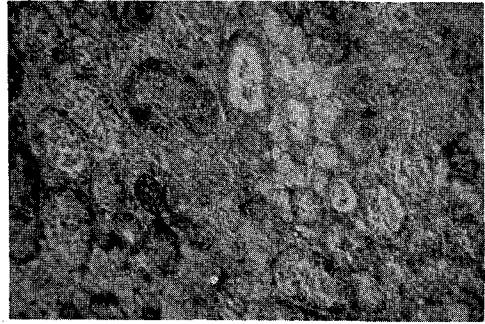
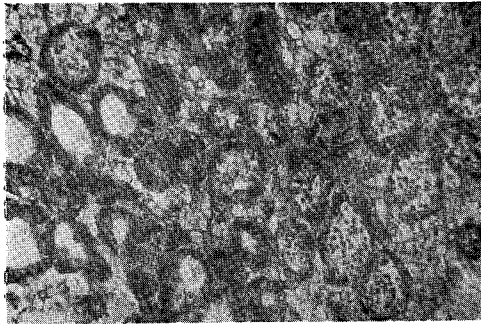
同 左



図版 XVII 消化盲囊に見られる変化 (マガキ)  
 消化盲囊の崩壊 (ピロニン・メチルグリーン染色)

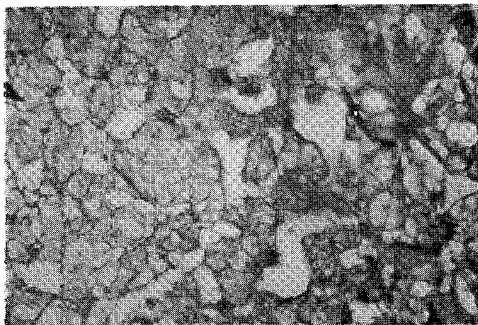


R N A の 減 少 を 認 め る

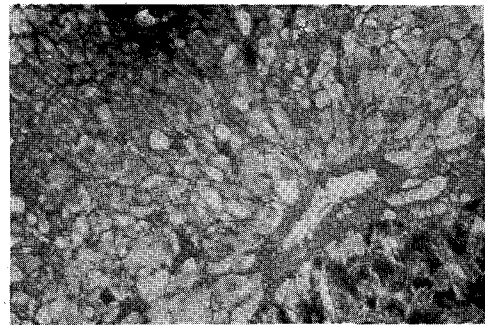


正 常 (多糖類反応)

図版 XVIII  
 消化盲囊周囲結合織の変化  
 (マガキ)

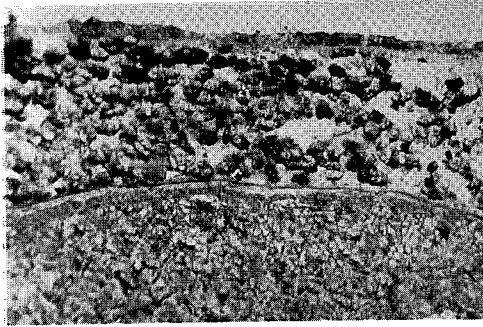


解離および空胞化 (多糖類反応)

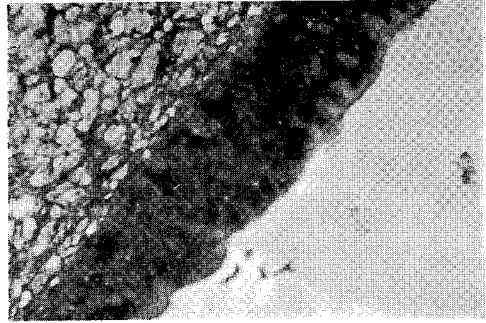


同 左

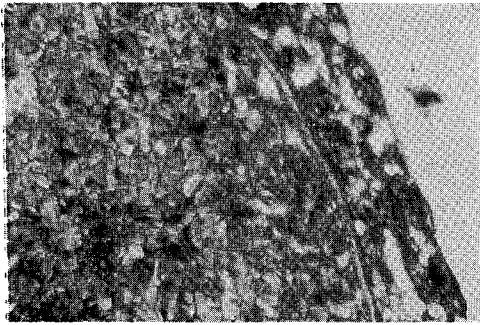
図版 XIV 体周囲結合織の変化 (マガキ)



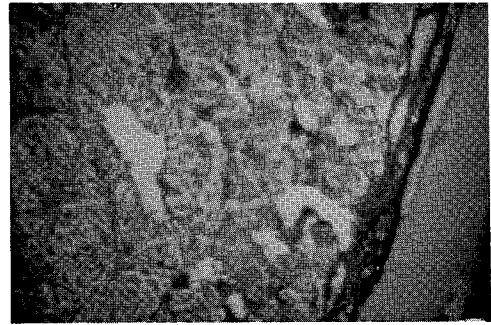
粘液分泌の昂進 (多糖類染色)



粘液分泌の昂進および空胞化 (多糖類染色)

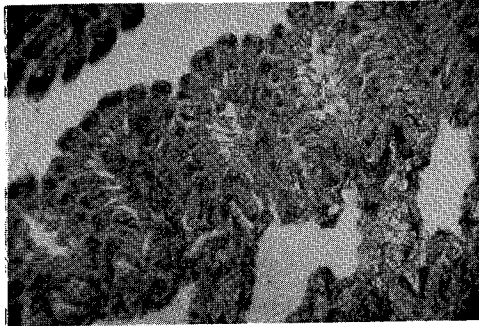


空胞化 (多糖類染色)

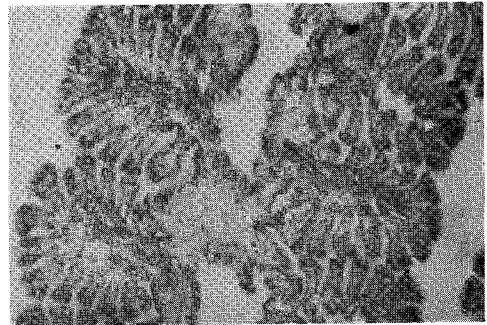


同 左

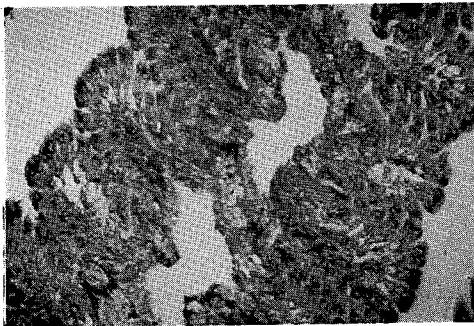
図版 XX 鰓に見られた変化(I) (マガキ)



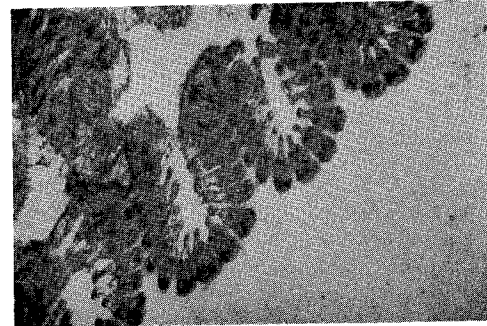
正常な鰓糸 (多糖類反応)



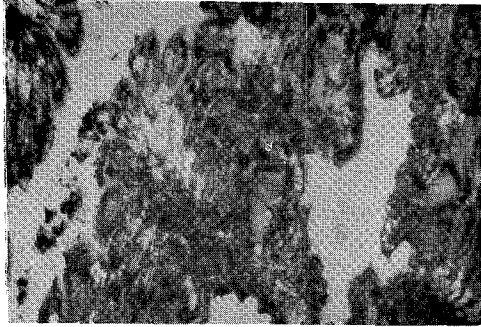
同 左 (ピロニン・メチルグリーン染色)



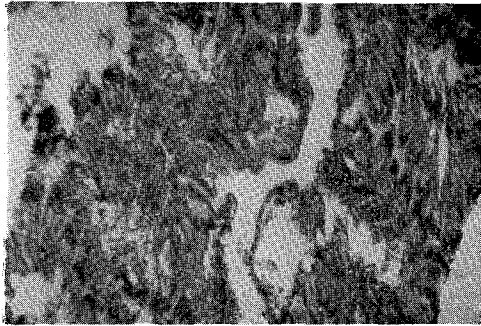
鰓糸外側の粘液分泌昂進 (多糖類反応)



鰓構造の軽度の解離 (多糖類反応)



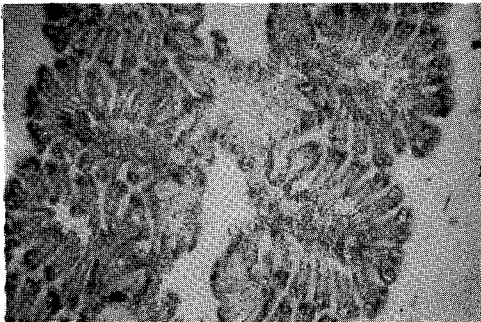
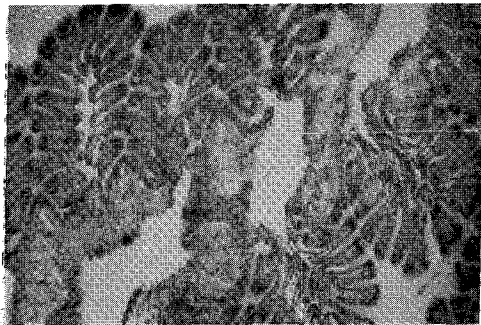
鰓の解離 (多糖類反応)



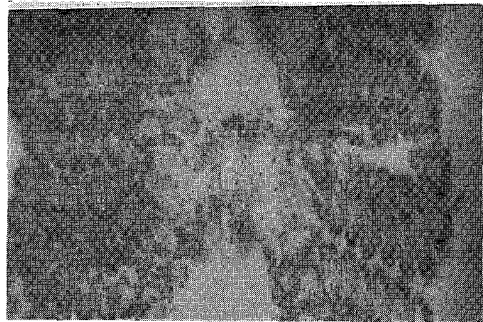
同上



鰓の崩壊 (多糖類反応)



図版 XXII  
鰓のRNAの減少  
(マガキ)  
(ピロニン・メチルグリーン染色)



## 正 誤 表

頁	行	正	誤
16	上から 3	血清蛋白組成	血清蛋白組織
25	3—29図	泳動距離 (cm)	濃度泳動距離 (cm)
32	下から 21	…ものと推定される。室内…	…ものと推される。完室内…
41	上から 2	斃死	斃止
41	下から 5	測定誤差	測定誤左
41	下から 5	0.2~0.3mg/g 湿重量	0.2~0.3mg/g 温重量
42	上から 16	水温の較差	水温の較左
42	上から 19	マガキ	マグキ
44	上から 12	4—6 図~4—15 図に	4—6 図に
51	上から 13	筋肉繊維	筋内繊維
53	下から 12	…カルシウムは主として…	…カルシウムは主して…
57	下から 5	凝集沈澱剤	凝集總澱剤
66	上から 19	トルエン	トリエン
68	下から 11	サルファイトバルブ廃水および クラフトバルブ廃水…	サルファイトバルブ廃水…
69	上から 20	細胞の分化	終細胞の分化
70	下から 8	これは細胞の…	これは終細胞の…
71	下から 6	…生ずる可能性は…	…生ずる能性は…
73	下から 10	…との関連について…	…との関連について…