

# 魚類の繁殖・稚魚の生育試験による下水処理水の安全性評価に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 25

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：岡本誠一郎、小森行也、北村友一

## 【要旨】

下水処理水が魚類の繁殖、仔稚魚の成長に与える影響を明らかにするため、活性汚泥 2 次処理水、塩素処理水、担体処理水にメダカ成魚をペアで曝露し産卵数と孵化率を、さらに、メダカ仔稚魚をそれに曝露し体長、体重などを調査した。産卵実験から、受精卵数は、塩素処理水曝露区で脱塩素水道水曝露区（コントロール）より若干低下する傾向を示したが、2 次処理水では増加、担体処理水は同程度となり、下水処理水曝露による顕著な悪影響はみられなかった。孵化実験では、2 次処理水曝露区の孵化率が 12.2%と悪化したが、塩素処理水での孵化率は 82%とコントロールの 86%と近い結果を示した。担体処理水曝露区の孵化率は 49%であった。仔稚魚の成長は、2 次処理水、塩素処理水曝露区で若干の阻害が観察された。

キーワード：下水処理水、メダカ、産卵数、受精率、稚魚、生長阻害

## 1. はじめに

「科学技術に関する基本政策について」に対する答申、総合科学技術会議、H22.12.24 では、人の健康保護や生態系の保全に向けて、大気、水、土壌における環境汚染物質の有害性やリスクの評価、その管理及び対策に関する研究を推進することが位置づけられている。近年、水生生物に影響を与える恐れのある未規制化学物質が下水処理水中に検出され、さらに、河川水に占める下水処理水の割合が高くなっている河川もあることから、水生生物に対する影響が懸念されている。水生生物の中で、魚類は、水生生物の代表種、経済生物でもあり、下水処理水が魚類に与える影響を把握する必要がある。魚類影響は、生態系保全を考慮すると、繁殖（産卵数、孵化率、稚魚の生長など）に関する項目で評価すべきであるが、下水処理水の魚類繁殖への影響評価法はまとめられていないこと、さらに、試験に長期間かつ手間を要すことから、下水処理水が魚類の繁殖に与える影響についての知見が得られていないのが現状である。

本研究では、下水処理水の魚類繁殖への影響を解明するため、メダカを試験魚とし、下水処理水がメダカの産卵、孵化、仔稚魚の成長に及ぼす影響を調査した。

## 2. 実験方法

### 2.1 実験方法の概要

本実験では、処理レベルの異なる 3 種類の下水処理水に雄・雌ペアでメダカ成魚の曝露を行い、産卵数、孵化率を調査した。これ加えて、下水処理水曝露履歴のない親から得られた孵化仔魚を下水処理水中で成長させ、その成長阻害の調査を行った。

### 2.2 下水処理実験装置の運転

下水処理実験装置の概要とメダカ曝露水槽の関係を図-1 に示す。下水処理実験装置は、最初沈殿池（500L）、エアレーションタンク（500L×4 槽）、最終沈殿池（700L）、塩素接触槽（100L）、担体処理水槽（10L×4）から構成されている。

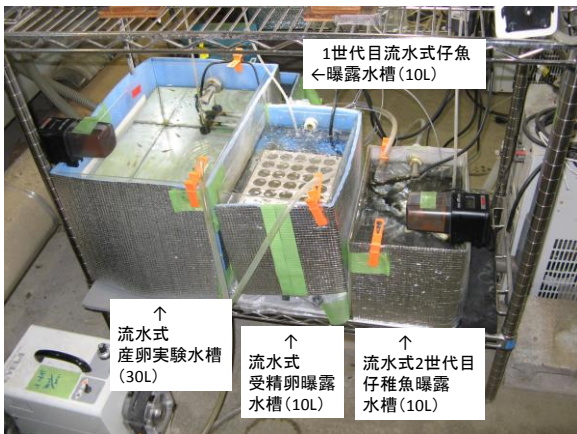
流入下水は、分流式下水道として整備され主に生活排水が流入する下水処理場の生下水を用いた。エアレーションタンクでは、第 1 槽から第 4 槽まで全面エアレーションを行う標準活性汚泥法による処理を行った。水理的滞留時間（HRT）は 7 時間となるように流入水量を制御した。塩素混和池では、その流出水で遊離残留塩素濃度が 0.1mg/L 程度となるように、次亜塩素酸ナトリウム溶液を連続注入した。担体処理槽は、微生物が自然発生的に保持されたポリプロピレン製円筒担体（φ5mm、長さ 5mm、厚さ 1mm）が充填され、水理的滞留時間 2 時間で 2 次処理水

を処理した。メダカの曝露水は、上記の2次処理水、塩素処理水、担体処理水とし、コントロール(対照区)を脱塩素水道水として、流水式でメダカ成魚、受精卵、仔稚魚の曝露実験を行った。

### 2.3 メダカの曝露条件

メダカの曝露は、写-1, 2に示した流水式曝露実験装置を使用した。メダカの曝露水槽は、各曝露区で3つ用意し、1つを産卵実験用(30L)、1つを受精卵曝露用(10L)、1つを仔稚魚曝露用(10L)とした。コントロールは、水道水を活性炭処理後、連続曝気した脱塩素水道水とした。メダカの曝露スケジュールを図-2に示す。産卵実験は、6~7か月齢の成魚を用い、約3カ月弱の間、産卵数調査を行った。この間3回の孵化実験を行った。仔稚魚成長実験は、土木研究所内において脱塩素水道水で継代飼育しているメダカから得られた孵化仔魚を約5カ月間、各下水処理水に曝露し、各曝露区で成長を比較した。産卵実験では、毎日、受精卵と未受精卵を区別し計数した。産卵、仔稚魚成長実験終了後は、全長、体長、体重を測定し肥満度を、続いて、肝臓、生殖腺を取り出し重量の測定を行い、肝臓重量指数、生殖腺重量指数を次式で算出した。

- 肥満度 (体重(g)/全長(cm)<sup>3</sup>×1000)
- 肝臓重量指数 (肝重量(g)/体重(g)×100)
- 生殖腺重量指数 (生殖腺重量(g)/体重(g)×100)



写-1 流水式メダカ曝露水槽

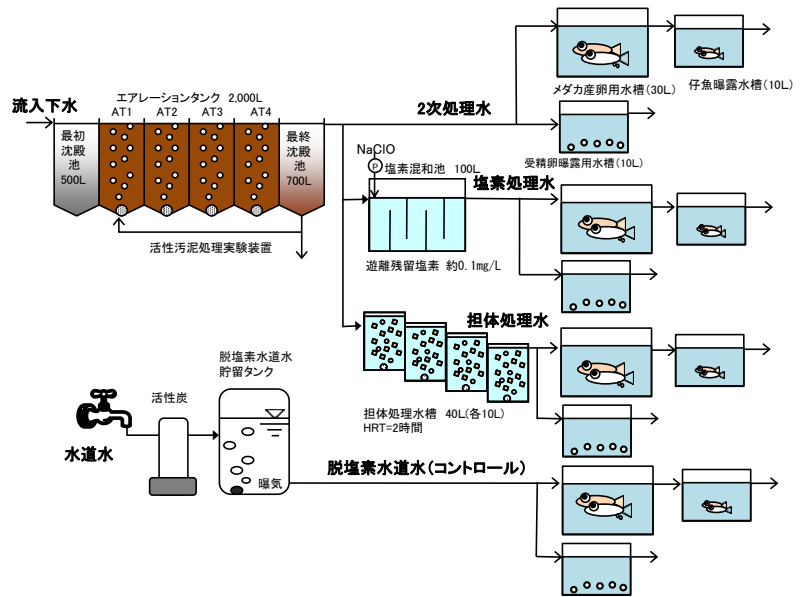


図-1 下水処理実験装置と流水式メダカ曝露装置の概要

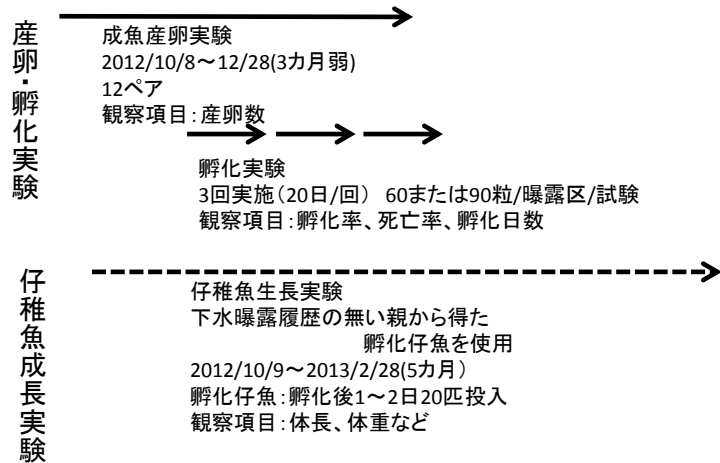


図-2 メダカ曝露実験のスケジュール



**受精卵個別曝露方式**  
 (説明: 1穴の上下をステンレス製メッシュとその周囲をガラス短管により隔離し、受精卵を1つひとつを流水式で曝露することが可能)  
 1台で30個の受精卵曝露が可能)



**流水式受精卵曝露水槽**  
 (説明: スターラーと曝気で曝露水を攪拌)

写-2 流水式受精卵曝露装置

## 2.4 水質分析

各曝露水の性状を把握するため、産卵実験用水槽を代表とし、水温、pH、DO、電気伝導度、DOC、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、残留塩素濃度の分析を1~3回/周で行った。

pHは7程度、DOは $5\text{mgO}_2/\text{L}$ に維持されていた。電気伝導度は、下水処理水曝露区で $60(\text{ms}/\text{m})$ 、DOCは、 $4\sim 5\text{mg}/\text{L}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は概ね $0.2\text{mg}/\text{L}$ 以下、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は $10\sim 20\text{mg}/\text{L}$ であり、2次処理水、塩素処理水、担体処理水で顕著な違いはみられなかった。塩素混和地出口での残留塩素の平均値は、全塩素で $0.46\text{mg}/\text{L}$ 、遊離で $0.07\text{mg}/\text{L}$ であったが、塩素処理水曝露水槽内の残留塩素の平均値は、全塩素で $0.12\text{mg}/\text{L}$ 、遊離塩素は $0.03\text{mg}/\text{L}$ と低下していた。

## 3. 実験結果

### 3.1 水質分析の結果

図-3に全曝露期間中の各産卵実験用曝露水槽内の水質分析の結果を示す。各曝露水の水温は約 $26^\circ\text{C}$ 、

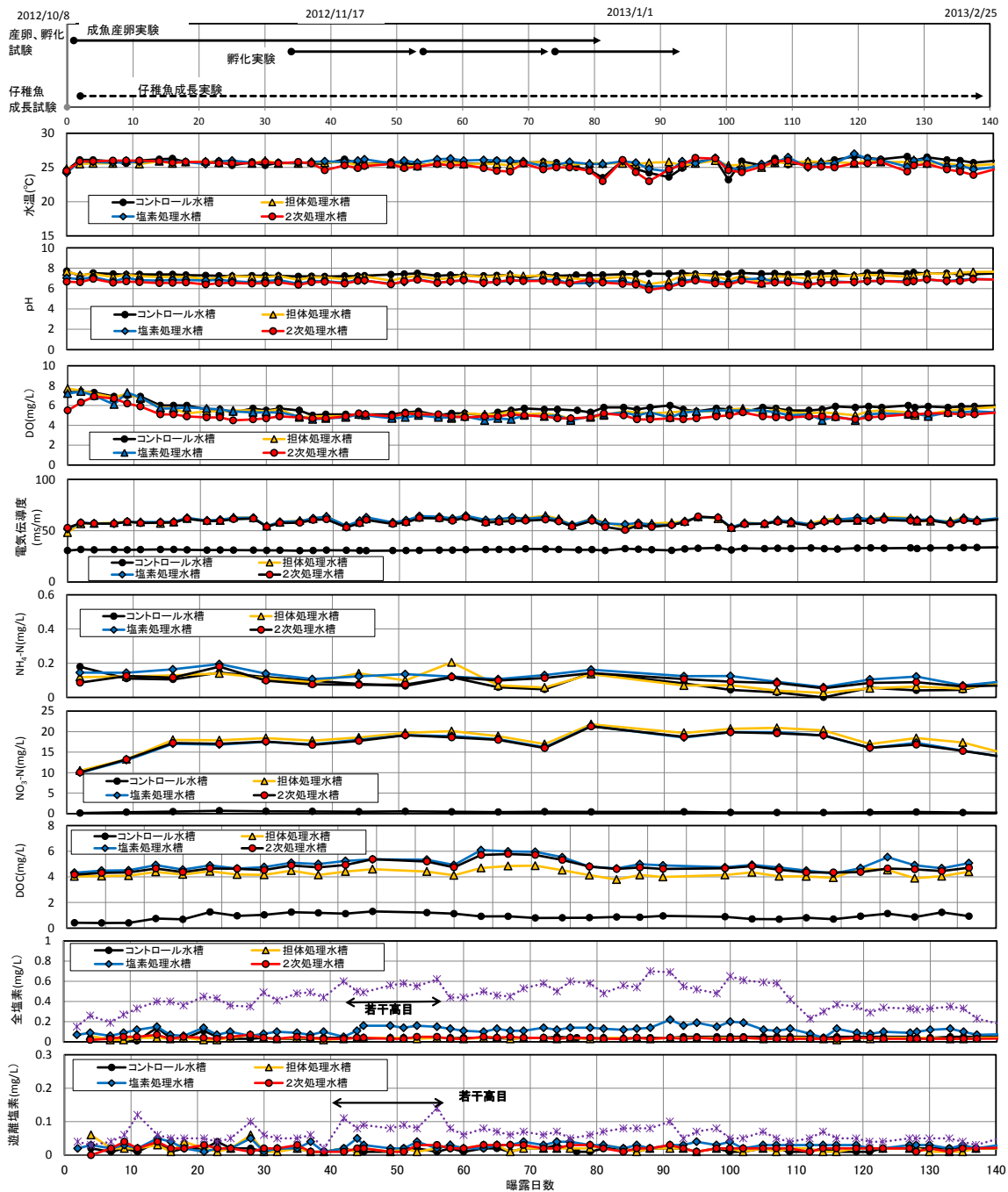


図-3 各曝露水槽の水質分析結果

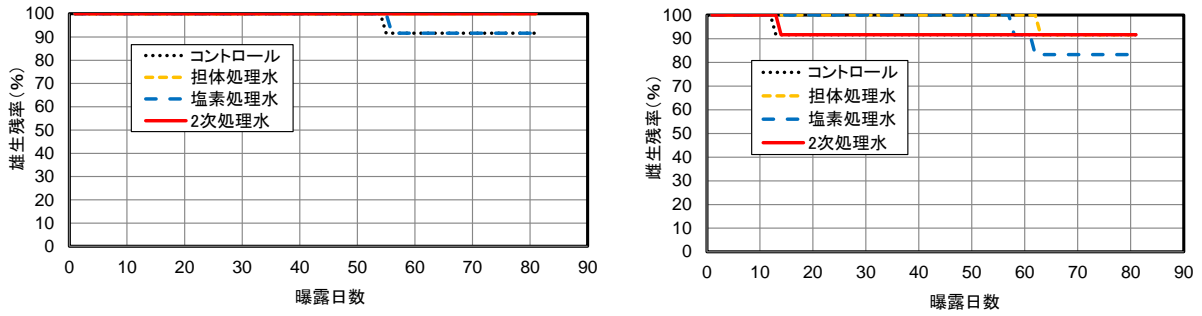


図-4 成魚産卵実験での雄と雌メダカの生残率

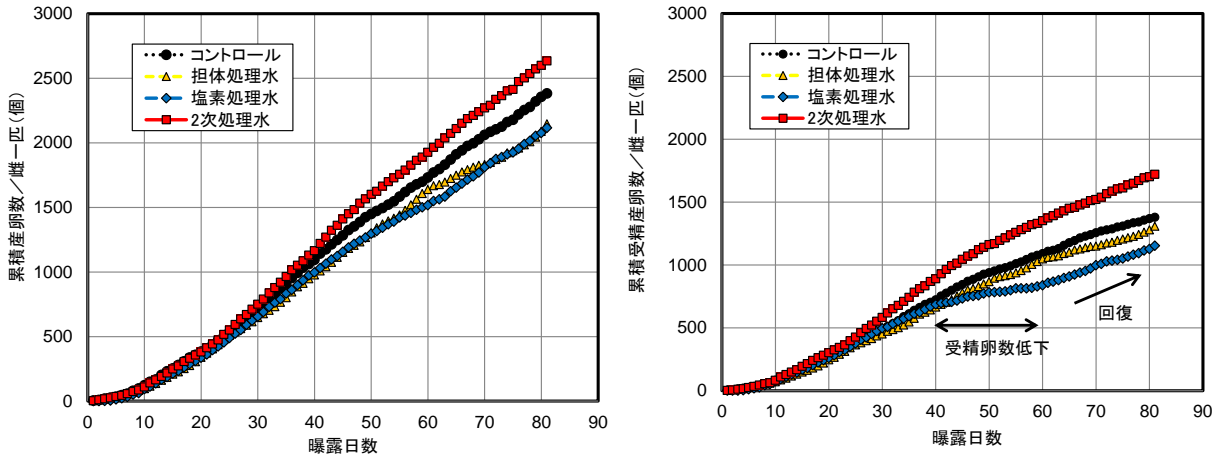


図-5 成魚産卵実験での雌1匹あたりの累積産卵数と受精卵数の経過日変化

### 3.2 成魚産卵実験の結果

図-4 にメダカ成魚の産卵実験中の雄と雌メダカの生残率を示した。曝露期間中は各水槽で死亡個体がみられた。死亡個体数は、コントロールで1匹(♂)、2次処理水1匹(♀)、塩素処理水3匹(♂1、♀2)、担体処理水で1匹(♀)程度であり、全ての曝露区で曝露期間中80%以上のメダカが生残していた。

図-5に雌1匹当たりの累積産卵数と累積受精卵数を示す。2次処理水曝露区の産卵数、受精卵数とも、コントロールよりも増加した。原因は不明であるが、2次処理水は活性汚泥の微細フロックが他の処理水よりも多く含まれていたため、これが餌源となり産卵数が増加した可能性がある。塩素と担体処理水曝露区の産卵数は同程度でコントロールより低かった。塩素処理水曝露区では、図-3のとおり、残留塩素濃度が高目となった40~60日目に受精卵数が低下する傾向がみられたが、残留塩素濃度の低下とともに累積受精卵数の傾きは回復した。担体処理水曝露区の受精卵数は、概ねコントロールと同等であった。曝露終了後の全長、体長、体重、肝臓、生殖線重量指数、肥満度を図-6に示す。肝臓重量指数は、雌メダカで塩素処理水、2次処理水曝露区でコントロールより有意に増加していた。

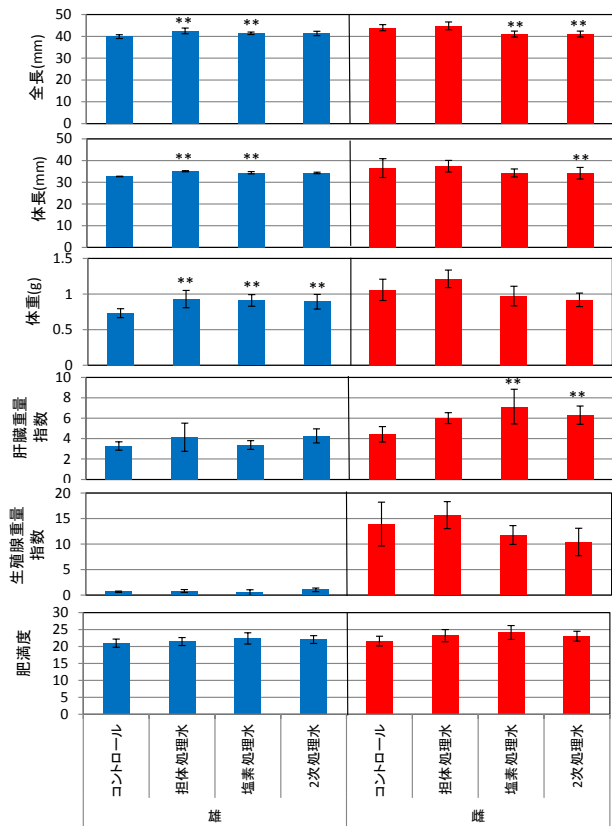


図-6 成魚産卵実験終了時の全長、体長、体重肝臓・生殖線重量指数、肥満度

エラーバー：標準偏差、\*\*は1%有意

残留塩素濃度の高い時期でも産卵は観察されたが、受精卵数が若干低下する傾向であったことから、放流先に魚類の繁殖場があり、河川水の希釈が期待できない場合は、塩素の添加量は必要最小限が望ましいと考えられる。

### 3.3 孵化実験の結果

図-7に成魚産卵実験で得られた受精卵を用いた3回の孵化実験の結果を示す。2次処理水曝露区の3回の平均孵化率は12.2%と低かった。担体処理水曝露区では、2次処理水曝露区より改善がみられたものの3回の平均孵化率は49.3%であった。塩素処理水曝露区の孵化率はコントロール(86.7%)に近く、3回の平均孵化率は82.4%が得られた。孵化日数は、2次処理水と担体処理水曝露区で短縮される傾向を示した。コントロールと塩素処理水曝露区の孵化日

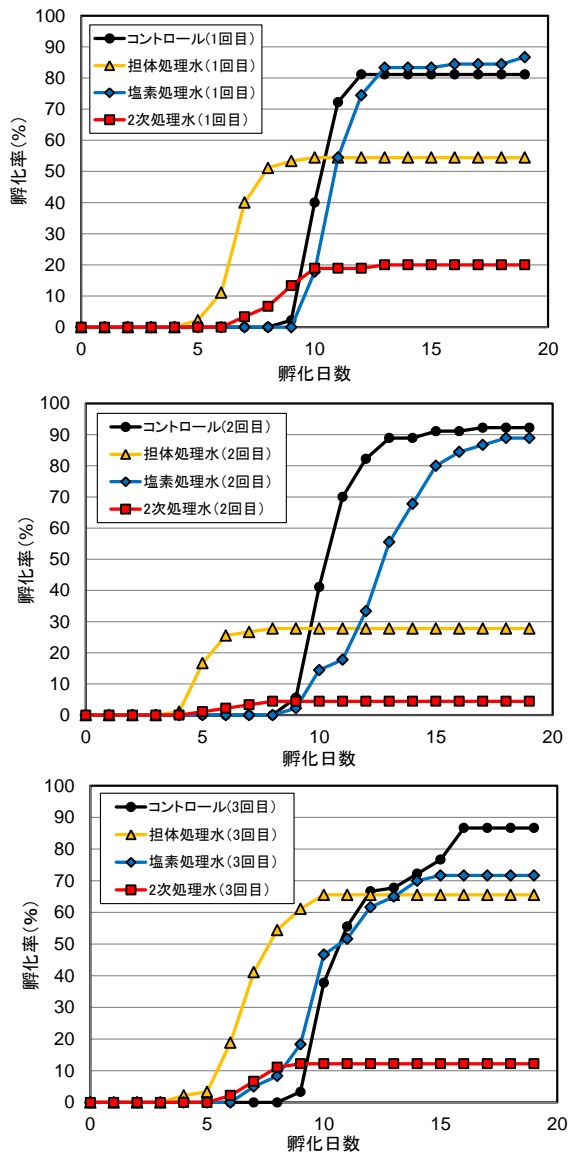


図-7 孵化実験の結果

数は0~12日であるのに対し、2次処理水や担体処理水曝露区の孵化日数が約5~8日となった。また、2次処理水や担体処理水曝露区では5日目以降に死亡する個体が多かった。

塩素処理水曝露区では、コントロールと同等の孵化率、孵化日数が得られたことから、塩素は、メカニズムは明らかでないが、2次処理水に含まれる胚毒性を緩和できることが明らかとなった。

### 3.4 仔稚魚成長実験の結果

図-7に仔稚魚の成長実験終了後の生残した個体(2次処理水7匹、担体処理水9匹、塩素処理水11匹、コントロール13匹)の全長、体長、体重、肝臓・生殖腺重量指数、肥満度の結果を雌雄別に示した。2次処理水と塩素処理水では、コントロールより全長、体長、体重が有意に低下する傾向が観察された。

今回の実験からは、生長阻害の原因が2次処理水にあったのか、塩素処理水にあったのかは、明らかではない。今後、2次処理水で成長阻害が生じた原因と、担体処理水とその後段で塩素処理を行うなどの実験から塩素の成長阻害の検証が必要である。

### 6. おわりに

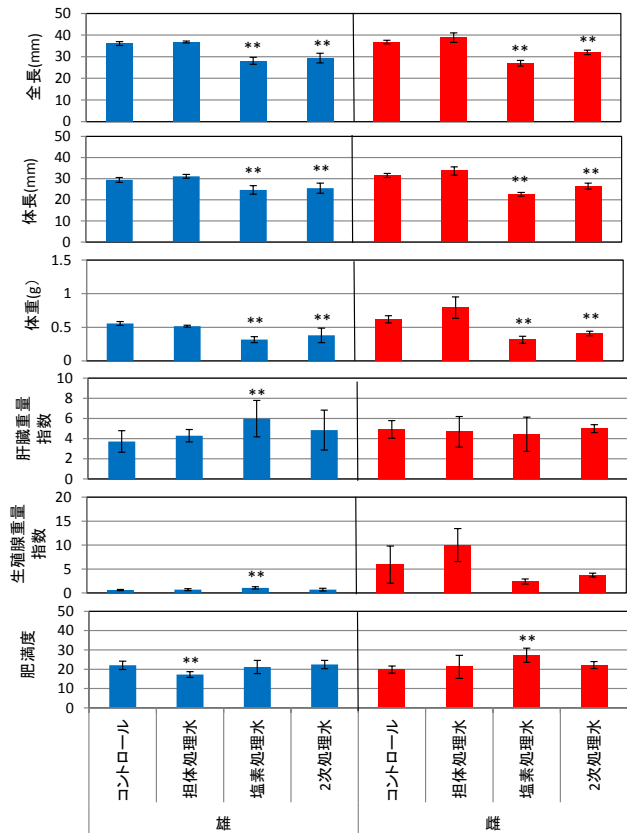


図-8 仔稚魚成長試験終了時の全長、体長、体重、肝臓・生殖腺重量指数、肥満度  
エラーバー：標準偏差、\*\*は1%有意

下水処理水が魚類の繁殖に与える影響を明らかにするため、メダカを用いて活性汚泥2次処理水、塩素処理水、担体処理水に成魚ペアメダカ、仔稚魚を曝露し、産卵数、孵化率、仔稚魚の成長を調査した。

本研究で得られた知見を以下に述べる。

### 1. 成魚産卵実験から

- 1-1) 2次処理水曝露区は、コントロールより産卵数、受精卵数が増加した。
- 1-2) 塩素処理水曝露区は、塩素濃度が高くなると受精卵数が低下したが、塩素濃度の低下とともに受精卵数の回復がみられた。
- 1-3) 担体処理水曝露区の受精卵数は、コントロールと同等の結果となった。

### 2. 孵化実験から、

- 2-1) 2次処理、担体処理水、塩素処理水曝露区の孵化率は、それぞれ 12.2%、49.3%、82.4%となった。
- 2-2) 孵化日数は、2次処理水と担体処理水曝露区で約 5~8 日と、短縮される傾向を示した。2次処理水や担体処理水では 5 日目以降に死亡する個体が多かった。
- 2-3) 塩素処理水曝露区では、コントロールと同等の孵化日数、孵化率が得られた。

### 3. 仔稚魚の成長試験から

- 3-1) 塩素処理水と2次処理水では、コントロールより全長、体長、体重が低下する傾向が観察された。

今後は、多世代試験から下水処理水の魚類生態影響を評価していく予定である。



## Safety evaluation of treated sewage using fish reproduction and larval growth test

Budget: Grants for operating expenses (General account)

Research Period: FY2011–2013

Research Team: Water Quality Research Team

Authors: Seiichirou OKAMOTO, Koya Komori, Tomokazu KITAMURA

To clarify the influence of sewage treatment on fish reproduction, reproduction and larval growth test of medaka was carried out. Male and female medaka were exposed to dechlorinated tap water (control), activated sludge treated water (AS), chlorinated activated sludge treated water (ASC), and AS plus microbial carrier treated wastewater (ASMC). The reproduction test of the first-generation adult fish indicated that the number of medaka eggs exposed to AS, ASC, and ASMC increased, decreased, and remained same in comparison with that of control, and their hatching ratios were 12.2%, 82%, and 49.3%, respectively. The larval growth test indicated that the long and weights of medaka exposed to AS, ASC, and ASMC decreased, decreased, and remained same in comparison with that of control, respectively. Thus, the adverse effects on medaka reproduction could be prevented by adding ASMC.