

原著論文

遊離アンモニアとクロラミンがアユの生残と行動に及ぼす影響

恩地啓実^{*1,2 §}

Effects of Free Ammonia and Chloramine on the Survival and Behavior of Ayu

Hiromitsu Onchi^{*1,2 §}

要約: 大和川下流域の河川水を使用して, アユ稚魚に対する急性毒性試験を実施した。大和川河川水にはアユ稚魚に対する急性毒性が確認され, その原因物質は遊離アンモニアであると考えられた。遊離アンモニアのアユ稚魚に対する48時間半数致死濃度は0.20mgN/Lと推定された。クロラミンが0.065mg/Lの濃度で混在することで, 遊離アンモニアの48時間半数致死濃度は0.10mgN/Lまで低下した。

急性毒性が確認された遊離アンモニアとクロラミンに対するアユ未成魚の行動試験を実施した。忌避行動試験では, アユは遊離アンモニアの濃度に関わらず, 群れを形成し同じ場所に留まる傾向が確認され, 本試験で使用した遊離アンモニアの濃度範囲 (0.053mgN/L ~ 0.30mgN/L) では, 明確な忌避行動は確認されなかった。しかし, 遊離アンモニア濃度が高くなるにつれ, 群れから離れて泳ぐ等の特異な行動が確認された。とびはね行動試験では, 遊離アンモニア濃度ととびはね率には有意な負の相関があり, 遊離アンモニア濃度が0.10mgN/Lの場合, 約半数のアユがとびはねることが出来なかった。さらにクロラミンが混在することでアユのとびはね行動に及ぼす遊離アンモニアの阻害効果は強くなり, クロラミン濃度が0.035mg/Lでは, 遊離アンモニア濃度が0.053mgN/Lでも80%以上の個体がとびはねることが出来なかった。

キーワード: アユ, 急性毒性, 行動試験, 遊離アンモニア, クロラミン

Abstract: Acute toxicity of Yamato River water to juvenile Ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* was examined. Lethal toxicity was found in the concentrated water of the Yamato River and ammonia is considered to be major cause substance. The 48-hour median lethal concentration of free ammonia was 0.2 mgN/L. The 48-hour median lethal concentration lowered 0.10 mgN/L under the presence of chloramine of 0.065 mg/L.

Effects of free ammonia and chloramine on the swimming behavior of immature Ayu were carried out. Avoidance behavior was not found and Ayu remained in the same place during experimental period regardless of free ammonia concentration of 0.053-0.30 mgN/L. However, abnormal behavior was increased with the elevation of free ammonia concentrations. There was a significant negative relation between jumping behavior of Ayu and free ammonia concentration, and half of Ayu individuals tested were not able to jump when the free ammonia concentration was 0.10 mgN/L. Effect of ammonia on the jumping behavior of Ayu was enhanced with chloramine, and more than 80% of fish could not jump at free ammonia concentration of 0.053 mgN/L with the chloramine concentration of 0.035 mg/L.

Key words: Ayu, acute toxicity, behavioral experiments, free ammonia, chloramine

(2020年5月14日受付, 2020年11月17日受理)

*1 公益財団法人海洋生物環境研究所 中央研究所 (〒299-5105 千葉県夷隅郡御宿町岩和田300番地)

*2 現所属: JFEアドバンテック株式会社 海洋・河川事業部 大阪営業部 (〒663-8202 兵庫県西宮市高畑町3番48号)

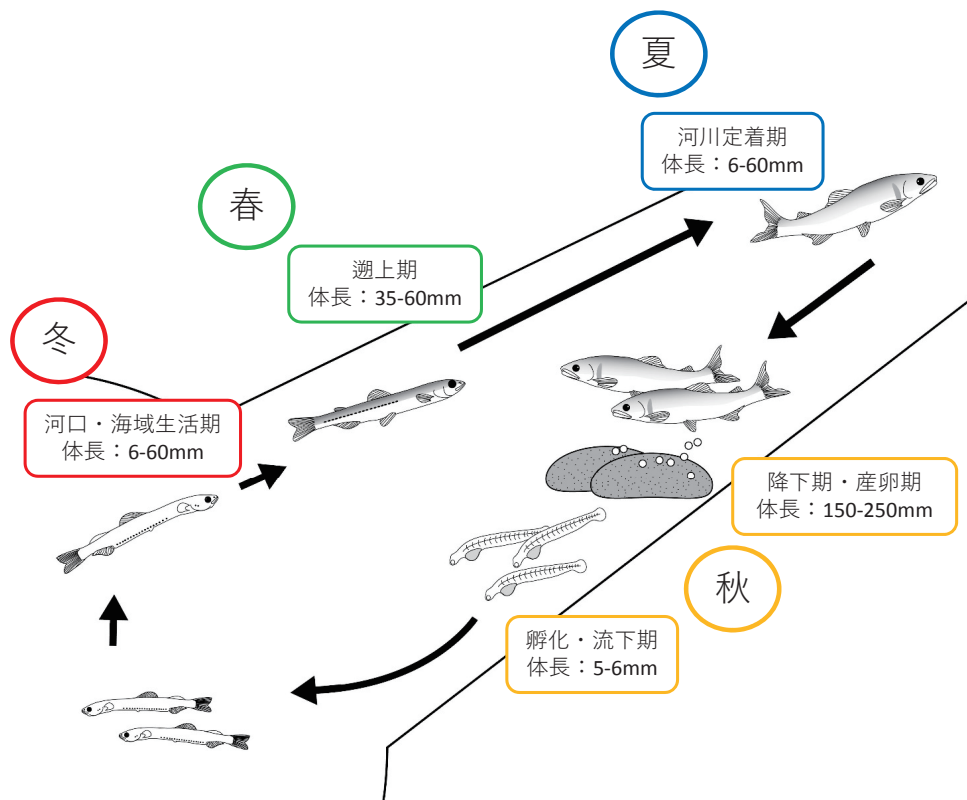
§ E-mail: onchi@jfe-advantech.co.jp

まえがき

河川は古来より水そのものの利用、漁獲物の食料としての利用、交通路としての利用などと、人間の生活に大きな関わりを持ってきた。しかし産業革命以後、防災や利水のために河川の流れを人為的に大きく改変したり、産業の発達により水質を汚染したりするなどの問題が世界各地で起こった（沖野外，2002）。日本においても、高度成長期（1955-1974年）の工業の発展や人口の著しい増加によって、増加した家庭排水・工場排水が下水道整備の遅れにより未処理のまま河川に流され、都市に隣接する河川（以後、都市河川とする）では水質汚染や汚濁が深刻な公害問題となった。また、流域の池や湿地などの保水域が埋め立てられ、住宅や道路などが建設されたことにより降雨が浸透する面積が減少した。そのために、降雨は短時間で河川まで到達し流出量が増大するといった都市水害が頻発するようになった。この都市水害にすみやかに対応するために、ダムの建設やいわゆる三面張りの直立護岸などの緊急的な流下能力優先の河川整備が進められた（島谷，2000）。

このような治水や利水の思想の中には、人間以外の生物に対する関心はほとんどなく、河川工事の際、河川に生息する生物への配慮はほとんどされて来なかった。しかし1957年に全国で初めて隅田川において汚泥浚渫が行われ、これを契機に公共用水域の水質悪化が社会問題となり、河川環境にかかわる行政の対策も変化した（吉川，2005）。都市河川では、排水の水質規制がなされ、また家庭等からの排水に対して下水道が整備され、排水の処理がなされるようになるなどの対策が講じられ、水質が改善されてきた。

都市河川では、水質の改善や親水性の向上などが進められ、徐々にではあるが河川的环境および生態系が回復しつつある。中でもかつて著しく個体数が減少していたアユ *Plecoglossus altivelis altivelis* の増加を目標として取り上げる河川が多い（田辺，2006）。アユは内水面漁業上重要で、かつ遊漁対象種としての人気も高く、昔から日本人に馴染みの深い魚である。アユはアユ科アユ属に属し、海と河川を行き来する両側回遊魚である。アユの生活史は、第1図に示す遡上期、河川定着期、降下期・産卵期、孵化・流下期、河口・海域生活期。



第1図 アユの生活史。

海域生活期に分けられる（高橋・東，2006）。都市河川ではダム造成により、アユの遡上の阻害や産卵に必要な砂利の下流域への供給の堰き止め、さらには出水などのイベントが減少することで産卵行動や遡上行動が不活性になるなど、アユの行動や生息への影響が懸念されている。多くの河川で漁業協同組合が中心となり遡上魚の保護や産卵場の造成などによるアユ資源の保護が行われている。例えば、物部川（高知県）では流量の影響を強く受ける産卵期にダムの水量を調整することによって、効率的な産卵が可能な環境づくりが試みられている（高橋・東，2006）。

このように近年では、自然再生を目指す都市河川において天然アユの遡上環境や産卵環境が着目されており、遡上数の増加を河川環境改善の目標として掲げる河川も少なくない。本研究の対象である大和川では、天然アユの遡上数100万尾を水質改善の目標として掲げている（大和川水環境協議会，2006）。

筆者らはこれまでに天然アユ未成魚の遡上調査、アユ仔魚の流下調査、河口域でのアユ稚魚の出現状況の確認調査を行ってきた。遡上調査では、微小部蛍光X線分析により天然アユと放流アユを区別し（中澤ら，2012）、その比率とアユの放流数を用いピーターセン法により天然アユの遡上数を推定した。その結果、2010年～2012年の遡上数は14,000尾～33,000尾と推定された（矢持，2012；浪田ら，2014）。流下調査では、流下仔魚の採集数と河川流量などから総流下数を推定した。その結果、2007年と2009年の総流下数はそれぞれ290万尾，190万尾と推定された（Onchi and Yamochi, 2011）。天然アユの遡上数は淀川では163万尾（淀川環境委員会，2013）、多摩川では1,194万尾（東京都島しょ農林水産総合センター，2012）と推定されており、仔魚の流下数は長良川では10億尾～80億尾（嶋田ら，2006）、庄川では11億尾～14億尾（田子，1999）と推定されている。これらの河川と比べ、大和川における遡上数や流下数は1/100～1/1,000と極めて少ないことがわかった。アユ稚魚の出現状況の確認調査では、河口域に蟄集する時期のアユ稚魚を大和川河口域とその周辺海域において採集した。その結果、大和川河口の周辺海域では10回の調査で18個体のアユ稚魚が採集されたものの、河口域では3回調査を行ったがアユ稚魚は確認されなかった（恩地ら，未発表）。このことから、大和川河川水にはアユ

稚魚の蟄集を妨げる要因があると考えられ、それが大和川における天然アユの遡上数が少ない原因の一つであると考えられた（恩地ら，未発表）。そこで本研究では、大和川河川水に含まれる天然アユの遡上を妨げる原因物質を特定することを目的とし、アユ稚魚および未成魚を用いた急性毒性試験と行動試験を行った。

1. アユ稚魚に対する急性毒性影響

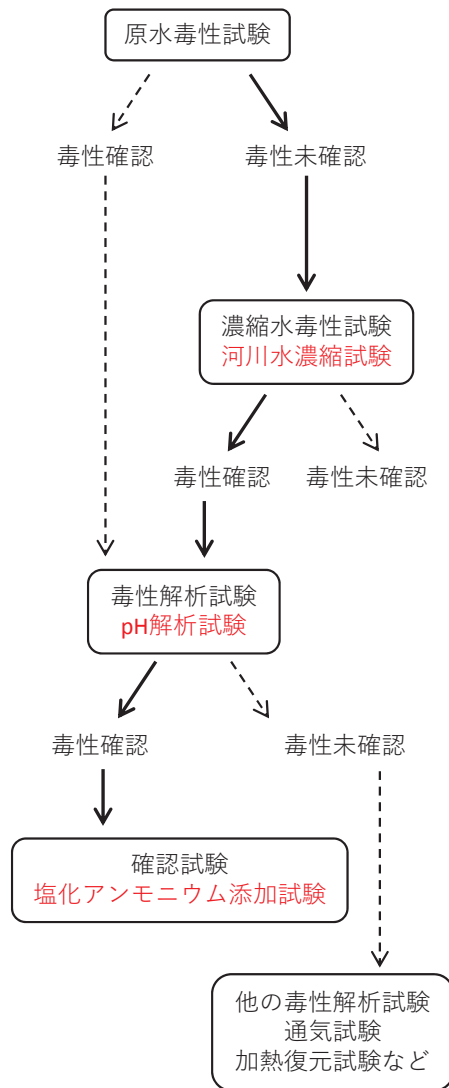
1) 大和川河川水による影響

アユ稚魚に対する大和川河川水の影響を明らかにするために、大和川河川水を用いた急性毒性実験を行い、毒性の確認と毒性物質の特定を行った。さらに、大和川下流域において水質調査を行い、アユ稚魚の遡上環境の検討を行った。

材料と方法

急性毒性試験は、水族環境診断法と生物試験法に準じ実施した（日本水産資源保護協会，1980）。水族環境診断法は、河川等で魚のへい死事故が発生した時に、へい死の原因を究明するために特定の魚種（一般にアカヒレ*Tanichthys albonubes*）を用いて行われる試験方法である。その方法としては、河川水の原水や濃縮水を用いた毒性試験を行い、毒性が確認された場合には、毒性解析試験として、pH解析試験、通気試験、加熱復元試験などの原因物質を特定するための試験を行う。生物試験法は、任意の生物に対する特定の有害物質の致死量を求めるために行われる試験である。試薬を添加することで試験水の濃度を設定濃度に調整することにより、一般的に24・48・96時間後の半数致死濃度を求める。

本試験では、水族環境診断法に則り第2図に示したフローに沿って試験を実施した。予備試験の結果、河川水原水には急性毒性が確認されなかったため、河川水濃縮水を用いた急性毒性試験（以後、河川水濃縮試験とする）を行った。次に、毒性の原因物質を特定するために、pHを変化させることにより毒力がどのように変化するかを確認するpH解析試験を行った。pH解析試験の結果より、河川水の毒性の主要因子と考えられた遊離アンモニアの影響を確認するために、生物試験法に基づき塩化アンモニウム（ NH_4Cl ）を河川水に添加した塩化アンモニウム添加試験を実施した。



赤字：本試験で実施した試験

←：本試験で実施した順序

←---：本試験で実施しなかった順序

第2図 急性毒性試験における試験計画フロー図。

供試魚 海域から河川水の影響の強い河口域に蜷集する段階のアユを想定し、体長40mm程度（体長 41 ± 2.1 mm，体重 0.35 ± 0.031 g）の稚魚を供試魚とした（大竹，2006；田子，2002）。和歌山県日高川漁業協同組合（以後，日高川漁協とする）において生産された人工種苗を用いた。日高川漁協では，孵化後から体長20～30mmまでを塩分およそ10の汽水で，その後，淡水で飼育を行っている。

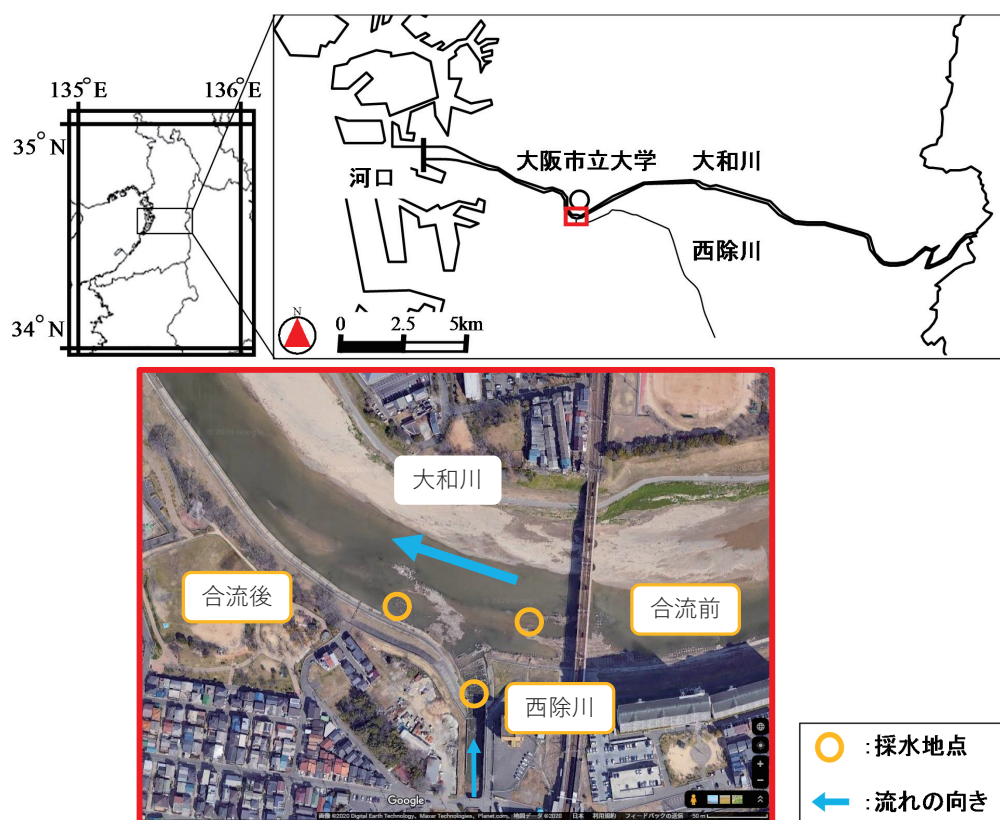
河川水濃縮試験では，2009年2月6日に日高川漁

協から入手した種苗を大阪府環境農林水産総合研究所水生生物センターまで輸送し，飼育水槽（1tコンクリート水槽）において給餌飼育した。水温調整は行わず，地下水（ $16 \pm 1^\circ\text{C}$ ）かけ流しとし，換水率はおおよそ2～3回/日とした。試験開始2日前に，試験に供する稚魚のみ馴致水槽（100L容パンライト水槽）に移し，換水率が2～3回/日となるよう地下水かけ流しで温度馴致した。水温はICオートヒーターにより 18°C 程度とした。温度馴致中は餌止めした。

pH解析試験および塩化アンモニウム添加試験では，2010年1月14日に日高川漁協から入手した種苗を大阪市立大学（大阪市住吉区）まで輸送した後，飼育水槽（100L容パンライト水槽）において給餌飼育した。飼育水は大和川（河口より6.6km上流）から水中ポンプ（SUPER ACE，寺田ポンプ製作所）で汲み上げ（第3図，合流前），フィルター（マイクロシリアEX-10，ロキテクノ，ろ過精度 $10 \mu\text{m}$ ）でろ過した河川水を用いた。貯水タンク（600L）から2つの飼育水槽に飼育水を流し，排水をフィルター（ユーロエックスパワーフィルター75，Tetra）でろ過した後，水中ポンプにより再び貯水タンクへと循環させた。pH解析試験に用いた供試魚の飼育では2日に1度，飼育水100Lを新たにろ過した河川水と入れ替えたが，飼育時のアンモニア態窒素濃度の上昇が確認されたため，塩化アンモニウム添加試験に用いた供試魚の飼育では，エアーポンプ（APN-057R，テックジャム）で48時間以上通気することで塩素除去した水道水500Lを1日に1度入れ替えた。試験開始前日に試験に供する稚魚のみを馴致水槽（600mm×300mm×360mmガラス水槽）に移して餌止めした。pH解析試験では飼育時と同様にろ過した大和川河川水を用い，塩化アンモニウム添加試験では通気により塩素除去した水道水を用いて止水状態とし，エアーポンプにより通気した。なお，飼育水槽と馴致水槽は，ウォーターバス水槽（縦910mm，横1,350mm）に收容し，ウォーターバス内の水を水中ポンプ（Rio+ 90，カミハタ）によって循環させつつICオートヒーターにより水温を 18°C 程度に調整した。

河川水の濃縮 河川水1Lを收容した2Lナス型フラスコをロータリーエバポレーター（RE200，ヤマト科学）に取り付け，ウォーターバス内で回転させながら凍結させた。ウォーターバスにはクー

恩地：遊離アンモニアがアユに及ぼす影響



第3図 河川水濃縮試験における採水地点図（Google mapより引用）。

第1表 急性毒性試験における採水地点・採水日・試験日

試験名	採水地点	採水日	試験日
河川水濃縮試験	合流前(大和川)	2009年2月15日	2009年2月17-19日
	西除川	2009年2月17日	2009年2月18-20日
	合流後(大和川)	2009年2月21日	2009年2月23-25日
pH解析試験	西除川	2010年1月19日	2010年1月27-29日
塩化アンモニウム添加試験	西除川	2010年3月14日	2010年3月17-19日

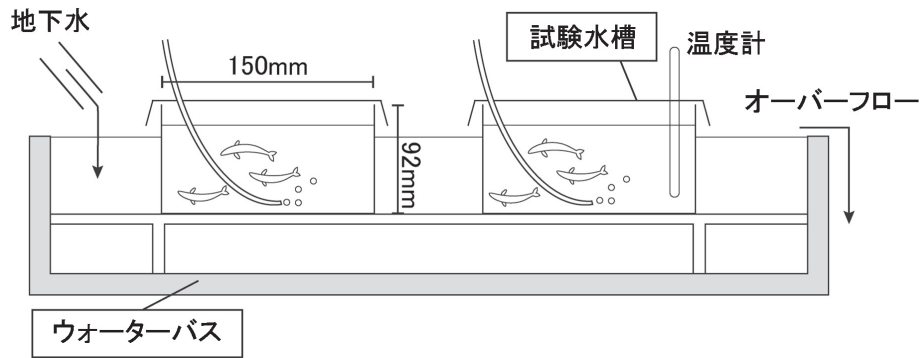
ルライン（CLH400，ヤマト科学）により， -15°C にした純度95%以上のエタノールを循環させた。濃縮水が80mL程度になるまで2時間かけ凍結した後，濃縮水をメスフラスコに移し，蒸留水で100mLにメスアップすることで，1Lの試水を100mLに濃縮したものを1,000%水（10倍濃縮液）とし，この1,000%水を適宜，蒸留水で希釈して試験に用いた。原水に濃縮液の倍率を乗じた物（理論濃度）に対する実際の測定値の割合を残存率とし，アンモニア態窒素濃度に基づき，下式から求めた。なお，アンモニア態窒素濃度はオートアナライザー（自動栄養塩分析装置AACS，BLTEC）

を用い，比色定量法により測定した。

$$A_n = C_n / (C_0 \times n) \times 100$$

ここで， n は濃縮液の倍率， A_n は n 倍濃縮水のアンモニア態窒素残存率（%）， C_n は n 倍濃縮液のアンモニア態窒素測定濃度（mg/L）， C_0 は河川水原水のアンモニア態窒素濃度（mg/L）である。

試験水 各試験の試水の採水地点と採水日，試験日について第1表に示す。西除川は大和川に最下流（河口から6.5km）で流入する支流であり，大和川の支流で最も水質汚濁が進行した河川の一つである（大和川水環境協議会，2006）。河川水濃



第4図 河川水濃縮試験に用いた試験装置の模式図。

縮試験では、西除川の影響を確認するために、西除川の流心と西除川との合流前後の大和川左岸側の計3地点において採取した河川水を用いた（第3図）。採水した河川水をろ過した後（ろ過精度10 μ m）、凍結濃縮して1,000%水を作成した。試水は1,000%水を蒸留水により希釈することで各濃度を対数4分割し（560%水、320%水、180%水、100%水）、1,000%水を含む5段階とした。ただし、合流後の試水については1,000%水、320%水、100%水の3段階のみとした。さらに、河川水の原水および馴致水（地下水）を用いた試験も実施した。

水族環境診断法では、pH解析試験に用いる試水の毒力は、3～6時間程度で供試魚の半数が死亡する毒力とされている（日本水産資源保護協会、1980）。本試験では河川水濃縮試験の結果（第2表）から西除川河川水の420%水をpH解析試験に用いた。西除川河川水420%水のpHは0.1mol/L水酸化ナトリウム（NaOH）水および0.1mol/L塩化水素（HCl）水を用い、酸性（6.00）とアルカリ性（9.00）に調整し、無調整（7.83）を含め3段階とした。また、西除川原水の酸性、無調整（7.84）、アルカリ性の3段階と馴致水（河川水ろ過水）を用いた試験も実施した。pHはpHメーター（HM-30R、東亜ディーケーケー）により測定した。

塩化アンモニウム添加試験では、pH解析試験で全数死亡が確認された遊離アンモニア濃度3.0mgN/L（第3表）よりも高い3.5mgN/Lを最も高い遊離アンモニア濃度とし、残りの濃度を対数4分割で2.0mgN/L、1.1mgN/L、0.63mgN/Lの4段階とし、ろ過した西除川河川水（ろ過精度10 μ m）に塩化アンモニウムを添加することで調整した。また、馴致水（塩素除去した水道水）を用いた試験も実施した。pHは河川水（pH8.15）と同程度

になるよう、0.1mol/L水酸化ナトリウム水および0.1mol/L塩化水素水により調整した。遊離アンモニア（NH₃）濃度はAnthonisen *et al.*（1976）の式より、アンモニア態窒素（NH₄⁺-N）濃度と水温、pHから算出した。

$$[\text{NH}_3] = [\text{NH}_4^+ - \text{N}] \times 10^A / (\exp(6344/273 + T) + 10^A)$$

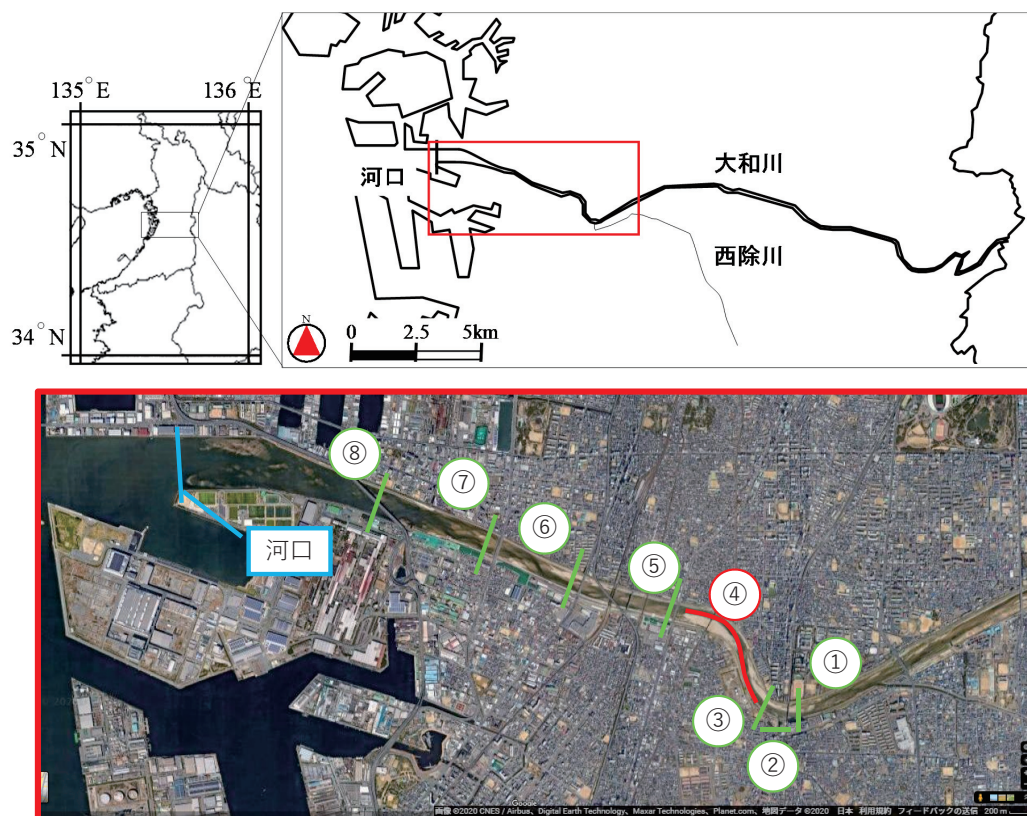
ここで、[NH₃]は遊離アンモニア濃度（mgN/L）、[NH₄⁺-N]はアンモニア態窒素濃度（mgN/L）、AはpH、Tは水温（℃）である。

試験装置と方法 試水は1Lとし、直径150mm、高さ92mmのプラスチック製円形水槽を試験水槽とした。プラスチック製ウォーターバス（縦835mm、横535mm、高さ187mm）に収容して、水温を18℃程度に調整した（第4図）。

1水槽あたり7個体の供試魚を収容し、試験開始から1時間後、2時間後、3時間後、6時間後、12時間後、24時間後、48時間後の生残個体数を記録した。なお、試験実施中は、エアーポンプを用いて試験水槽に通気し、試水の交換は行わなかった。

水質調査 大和川下流域に8測線、合計38地点を設定し（第5図）、アユの遡上時期である2009年4月29日に水質調査を実施した。測線の方向は測線④のみ河川に対し縦断方向（左岸側で採水）とし、その他の7測線は横断方向とした。横断方向に採水した測線では、採水地点が2地点の場合は左岸と右岸で、3地点以上の場合は左岸と右岸とその間を等間隔に採水し、採水層は表層とした。

調査項目は水温とpH、アンモニア態窒素濃度とし、これらの測定値より遊離アンモニア濃度を算出した。水温は現地にて棒状温度計で測定し、pHとアンモニア態窒素濃度は採水した後、実験



測線 No	測線名	河口からの距離 (km)	採水点数	
①	西除川合流前	6.6	4	
②	西除川	6.5	3	
③	西除川合流後	6.4	8	
④	大和川河川公園前	4.4～6.4	8	
⑤	遠里小野橋下	4.4	4	
⑥	大和川大橋下	3.4	2	
⑦	阪堺大橋下	2.5	2	
⑧	阪神高速湾岸線下	1.5	7	

— 採水ライン（横断方向）

— 採水ライン（縦断方向）

第5図 大和川下流域における水質調査地点図（Google mapより引用）。

室内でpHメーター（HM-30R，東亜ディーケーケー）とオートアナライザー（自動栄養塩分析装置AACS，BLTEC）を用いて測定した。

結 果

河川水濃縮試験 河川水のアンモニア態窒素濃度は合流前区に比べ西除川区，合流後区においてそれぞれ10倍，4.3倍高い値であった（第2表）。試水のアンモニア態窒素残存率は66～74%の範囲であった。河川水濃縮試験において，すべての試験区において馴致水を用いた試験では供試魚の死亡

は確認されなかった。合流前区では180%水で24時間後に1個体の死亡が確認されたが，それよりもアンモニア態窒素濃度の高い1,000%水などで死亡しなかった。西除川区では1,000%水，560%水，320%水において48時間後までに7個体すべての死亡が確認され，180%水と河川水の原水でそれぞれ2個体，1個体の死亡が確認された。合流後区では，1,000%水で試験開始から12時間後にすべての個体が死亡し，320%水や100%水では死亡しなかったが，河川水原水で24時間後に1個体の死亡が確認された。

第2表 河川水濃縮試験におけるアンモニア態窒素濃度、遊離アンモニア濃度とアンモニア態窒素残存率および経過時間別累積死亡個体数

試験水	アンモニア 態窒素濃度 (mgN/L)	遊離アンモニア 濃度 (mgN/L)	アンモニア態 窒素残存率 (%)	経過時間(hr)別累積死亡個体数						
				1	2	3	6	12	24	48
合流前区 (大和川)	1,000%水	1.55	0.095	72	0	0	0	0	0	0
	560%水	0.86	0.052	71	0	0	0	0	0	0
	320%水	0.49	0.030	71	0	0	0	0	0	0
	180%水	0.29	0.018	74	0	0	0	0	1	1
	100%水	0.16	0.0097	74	0	0	0	0	0	0
	河川水(原水)	0.22	0.013	—	0	0	0	0	0	0
	馴致水(地下水)	<0.02	—	—	0	0	0	0	0	0
西除川区	1,000%水	16.9	1.0	71	0	2	7	7	7	7
	560%水	9.75	0.60	73	0	0	6	6	7	7
	320%水	5.44	0.35	71	0	0	0	1	2	4
	180%水	3.19	0.20	74	0	0	1	1	1	2
	100%水	1.67	0.12	70	0	0	0	0	0	0
	河川水(原水)	2.38	0.17	—	0	0	0	0	1	1
	馴致水(地下水)	<0.02	—	—	0	0	0	0	0	0
合流後区 (大和川)	1,000%水	6.23	0.38	66	0	4	7	7	7	7
	320%水	2.03	0.12	67	0	0	0	0	0	0
	100%水	0.63	0.038	66	0	0	0	0	0	0
	河川水(原水)	0.95	0.058	—	0	0	0	0	1	1
	馴致水(地下水)	<0.02	—	—	0	0	0	0	0	0

出典;恩地・矢持(2011)を改変

第3表 pH解析試験における終了時のpHと遊離アンモニア濃度および経過時間別累積死亡数

試験水	pH	遊離アンモニア濃度 (mgN/L)	経過時間(hr)別累積死亡個体数							
			1	2	3	6	12	24	48	
西除川 420%水	酸性(6.00)	8.01	0.43	0	0	0	0	2	2	2
	無調整(7.83)	8.59	1.5	0	0	0	3	3	5	6
	アルカリ性(9.00)	8.96	3.0	0	0	1	7	7	7	7
西除川 原水	酸性(6.00)	7.73	0.074	0	0	0	0	0	0	0
	無調整(7.84)	8.18	0.20	0	0	0	0	0	0	0
	アルカリ性(9.00)	8.14	0.19	0	0	0	0	0	0	0
馴致水(河川水)	8.35	0.18		0	0	0	0	1	1	1

出典;恩地・矢持(2011)を改変

pH解析試験 pH解析試験における終了時のpHと遊離アンモニア濃度および経過時間別累積死亡数を第3表に示す。ここで供試魚が全て死亡した試験においては全てが死亡した時間を、それ以外では48時間後を試験終了時とした。試験開始時にpHを6.00、7.83、9.00に調整したが、試験中はpHの調整を行わなかったため、試験終了時には420%

水と原水のいずれもpHが8程度に変化し、各試験間における違いが小さくなっていた。原水ではpHに関わらず死亡した個体はなかったが、420%水では48時間後の死亡数が酸性区、無調整区、アルカリ性区で2個体、6個体、7個体と、毒性の違いが確認され、初期の設定pHが高いほど死亡数が多くなった。

第4表 塩化アンモニウム添加試験における終了時のpHと遊離アンモニア濃度および経過時間別累積死亡個体数

試験水	pH	遊離アンモニア濃度 (mgN/L)	経過時間(hr)別累積死亡個体数							
			1	2	3	6	12	24	48	
塩化アンモニウム添加水(3.5mgN/L)	8.23	3.66	2	7	7	7	7	7	7	
塩化アンモニウム添加水(2.0mgN/L)	8.19	1.88	0	2	6	7	7	7	7	
塩化アンモニウム添加水(1.1mgN/L)	8.24	1.20	0	0	0	1	5	7	7	
塩化アンモニウム添加水(0.63mgN/L)	8.05	0.44	0	0	0	1	2	4	7	
西除川河川水(原水)	8.34	0.26	0	0	0	1	2	2	2	
馴致水(水道水)	8.31	0.030	0	0	0	0	0	0	0	

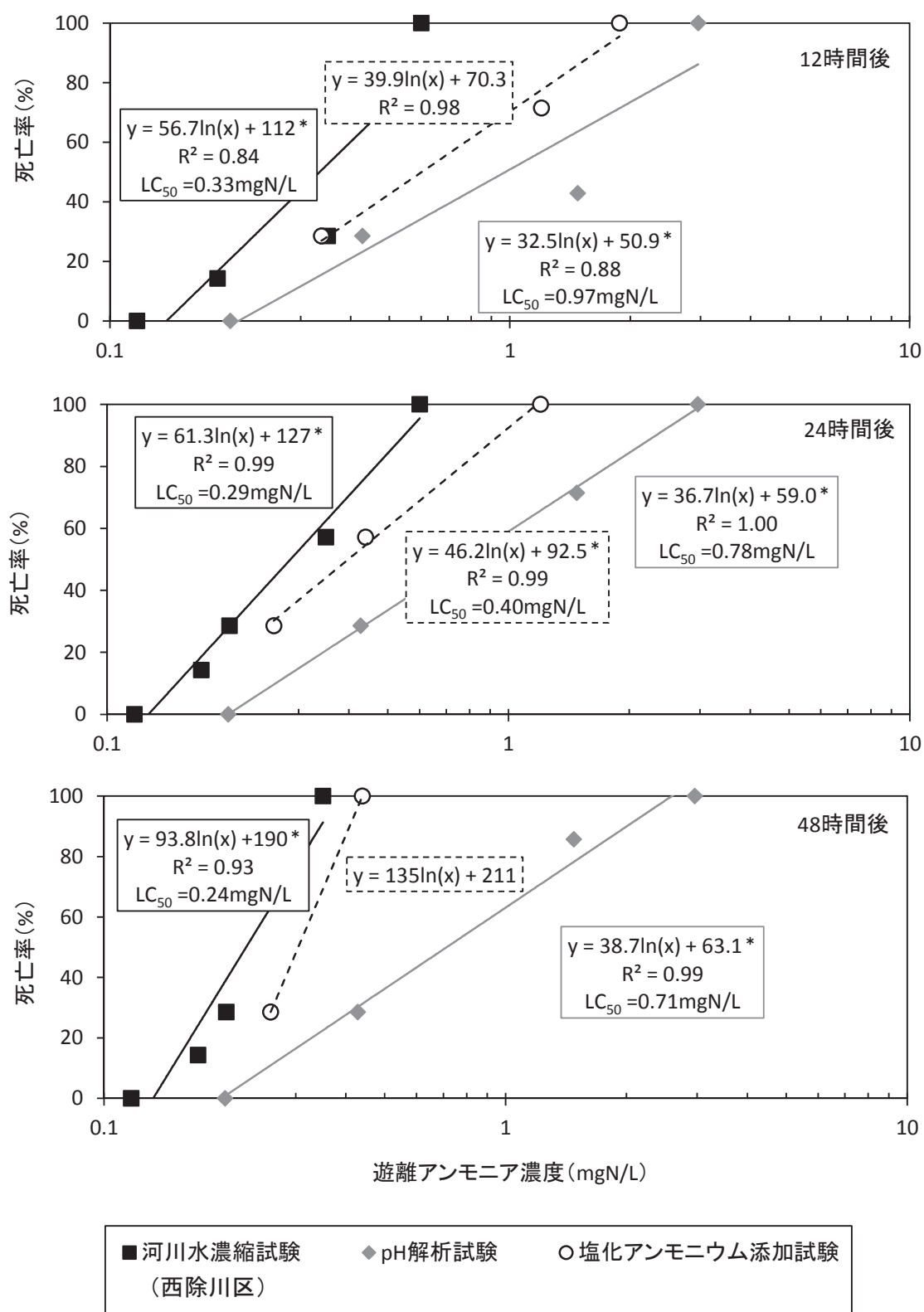
出典;恩地・矢持(2011)を改変

塩化アンモニウム添加試験 塩化アンモニウム添加試験における終了時のpHと遊離アンモニア濃度および経過時間別累積死亡数を第4表に示す。試験終了時の塩化アンモニウム添加水のpHは8.05～8.24であり、試験開始時に設定した8.15からわずかに変化した。遊離アンモニア濃度は概ね設定した濃度であり、試験中に供試魚が排出するアンモニアなどの影響はみられなかった。塩化アンモニウムを添加した水槽ではすべての濃度において供試魚7個体全てが死亡した。しかし、全個体が死亡した時間は遊離アンモニア濃度3.66mgN/L区、1.88mgN/L区、1.20mgN/L区、0.44mgN/L区でそれぞれ2時間後、6時間後、24時間後、48時間後と、濃度が高いほど時間が短かった。西除川河川水では、遊離アンモニア濃度が0.26mgN/Lであり、2個体の死亡が確認されたが、馴致水を使用した試験では1個体も死亡しなかった。

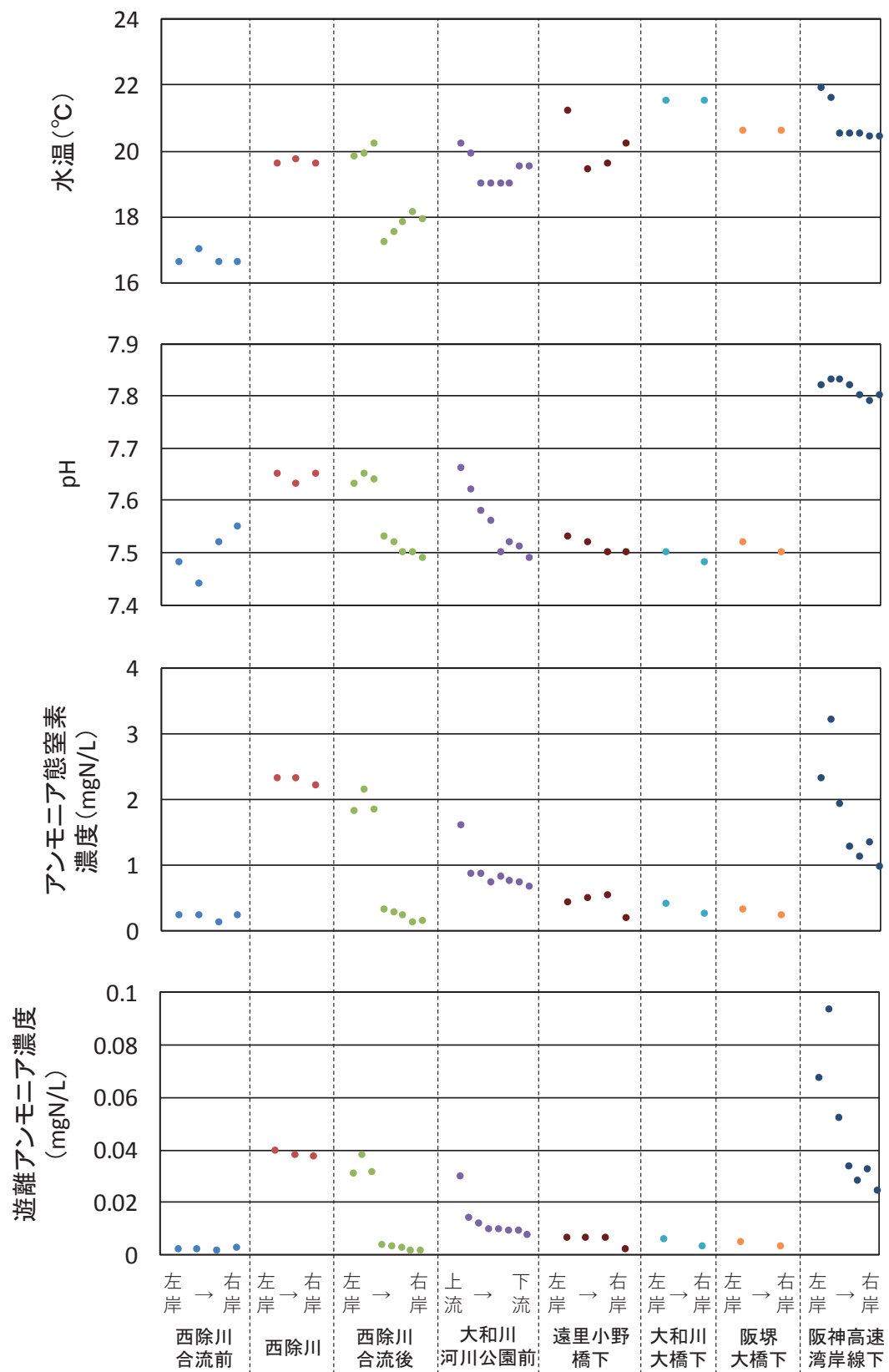
遊離アンモニアとアユ稚魚の死亡率 河川水濃縮試験（西除川区）、pH解析試験、塩化アンモニウム添加試験の結果より、試験終了時における遊離アンモニア濃度（対数値）と12時間後、24時間後、48時間後のアユ稚魚の死亡率との関係を第6図に示す。ここで、遊離アンモニア濃度は試験開始時のアンモニア態窒素濃度と試験終了時のpH、水温より算出した。2段階以上の濃度で同じ死亡率があった場合、死亡率が100%の時は低濃度を、死亡率が0%の時は高濃度を、死亡率が14～86%（死亡数が1～6個体）の時は対数値で中間値をそれぞれの死亡率の代表値とした。 R^2 は決定係数を示し、 LC_{50} は近似曲線より求めた死亡率が50%となる遊

離アンモニア濃度（半数致死濃度）を示す。すべての試験、経過時間において遊離アンモニア濃度が高くなると死亡率が高くなる傾向が確認され、12時間後と48時間後の塩化アンモニウム添加試験以外の試験で有意な相関が確認された（線形回帰分析、 $P < 0.05$ ）。遊離アンモニアの半数致死濃度は試験によって大きく異なり、48時間後の値は河川水濃縮試験（西除川区）の0.23mgN/LとpH解析試験の0.71mgN/Lで3倍以上の違いがあった。

大和川下流域の遊離アンモニア濃度 2009年4月29日に測定した水温、pH、アンモニア態窒素濃度およびそれらより算出した遊離アンモニア濃度の結果を第7図に示す。水温は16.6℃～21.9℃であり、西除川合流前（上流）から阪神高速湾岸線下（下流）にかけて高くなる傾向が確認された。西除川の水温は、西除川合流前より3℃以上高かった。また西除川合流後では左岸側3地点が右岸側5地点に比べ、2℃程度高い値を示した。pHは7.44～7.83であり、阪神高速湾岸線下が7.79～7.83と他の測線に比べ高い値であり、次いで、西除川と西除川合流後の左岸側3地点および大和川河川公園前の上流側2地点が7.6以上と高い値であった。アンモニア態窒素濃度は0.12mgN/L～3.2mgN/Lと地点間で30倍程度の大きな違いがあり、阪神高速湾岸線下で高い値を示し（0.95mgN/L～3.2mgN/L）、左岸から右岸にかけて減少傾向であった。西除川と西除川合流後の左岸側の3地点においても、1.8mgN/L以上と高い値であった。遊離アンモニア濃度は 1.2×10^{-3} mgN/L～0.093mgN/Lと地点間で80倍以上の違いがあり、アンモニア態窒素濃度の分布と同様の傾向が確認された。



第6図 河川水濃縮試験，pH解析試験，塩化アンモニウム添加試験における遊離アンモニア濃度とアユ稚魚の死亡率との関係（上：12時間後，中：24時間後，下：48時間後）。
*は遊離アンモニア濃度と死亡率の間に有意な相関があったものを示す（線形回帰分析， $P < 0.05$ ）。
出典：恩地・矢持（2011）を改変。



第7図 2009年4月29日の大和川下流域における水温, pH, アンモニア態窒素および遊離アンモニア濃度。

考 察

河川水濃縮水がアユの生残に及ぼす影響 西除川合流前の大和川河川水では、180%水で1個体死亡したが、それよりも高い濃縮率の試水では死亡しなかったことから、180%水の結果は毒性による死亡とは考え難く、西除川合流前の大和川の河川水にはアユ稚魚に対する急性毒性は無いと推察される。一方、西除川の320%水～1,000%水や合流後の1,000%水で全個体（7個体）の死亡が確認されており、さらに河川水原水においても1個体ずつ死亡していたことから、西除川河川水にはアユ稚魚に対する急性毒性を示す物質が含まれており、大和川と合流した後も残存していることが判明した。

遊離アンモニアがアユの生残に及ぼす影響 pH解析試験より、西除川河川水の毒性はpHが高くなると強くなる傾向が確認された。pHが上昇することで毒性が強まる物質として遊離アンモニアが挙げられる（日本水産資源保護協会，1980）。遊離アンモニアとアンモニア態窒素の化学平衡式は以下の式で表される。



遊離アンモニアはpHが高い、すなわち水素イオン濃度（ H^+ ）が低いほど、平衡は左側に移動し、遊離アンモニア濃度が上昇するためその毒性が強まる。遊離アンモニアとアユ稚魚の死亡率には正の相関が確認されたが（第6図）、試験によって遊離アンモニアによる死亡率は大きく異なっていた。その原因として、供試魚の飼育や馴致における飼育水中の遊離アンモニア濃度の影響が考えられる。河川水濃縮試験では飼育中、馴致中ともに地下水をかけ流しており、飼育水中の遊離アンモニア濃度は検出限界（ $8.0 \times 10^{-4} \text{mgN/L}$ ）以下であった。一方、pH解析試験では河川水を循環式で飼育や馴致に利用しており、飼育水中の遊離アンモニア濃度が0.18mgN/Lまで上昇した。塩化アンモニウム添加試験では、同じく循環式で飼育したが、塩素抜きした水道水を利用し、飼育水の交換頻度を増加させたことで飼育、馴致の際の遊離アンモニア濃度はそれぞれ0.058mgN/L、0.026mgN/Lまで低下した。城戸ら（1991）はアンモニアに対するマダイ仔稚魚の耐性試験の結果に基づき、アンモニア濃度が100%致死レベルよりも低い濃度範囲では、1日程度の馴致期間でアンモニア耐性が増

す場合があることを報告している。本試験においても飼育および馴致時の遊離アンモニア濃度が高かったことにより、供試魚の遊離アンモニアに対する耐性が増したため、pH解析試験で半数致死濃度が最も高い値となった可能性がある。

塩化アンモニウム添加試験では、試験の設定濃度をpH解析試験の結果に基づいて決定したが、その毒性が強すぎたために48時間後までに塩化アンモニウムを添加した試験水で全数死亡し、遊離アンモニアによる影響を正しく評価することができなかった。

大和川下流域の環境 2009年4月29日の大和川下流域の水質調査の結果、水温が下流の地点で高い値が確認されたが、これは調査を午前中から午後にかけて上流から下流へと行ったために、調査中に気温、水温が上昇したためであると考えられる。しかし、西除川合流前と西除川では連続して調査をしており、時間による水温上昇などがほとんど無かったと考えられるが、3℃以上の違いがあることから、西除川の水温は大和川に比べ、高い値であったといえる。pH、アンモニア態窒素濃度、遊離アンモニア濃度についても、西除川は大和川合流前に比べ、高い値を示しており、さらに合流後では西除川が合流する左岸側で右岸側よりも高い値を示したことから、西除川の水質は大和川本流に比べて汚濁が進行しており、合流後の左岸側で西除川の影響が強く出ていたといえる。その影響は下流ほど弱くなり、阪堺大橋下では左岸と右岸との違いはほとんどなかったことから、西除川の河川水は左岸側から右岸側へと拡散したと考えられる。しかし、最下流測線である阪神高速湾岸線下では、アンモニア態窒素濃度と遊離アンモニア濃度がそれぞれ3倍～10倍と5倍～30倍程度、阪堺大橋下よりも高い値となっており、さらに左岸側で右岸側の3倍以上高い値となっていた。この原因として河口より1.8km上流（阪神高速湾岸線下より300m上流）にある下水処理場の排水が考えられる。

2) クロラミンによる複合影響

多くの下水処理場では処理水を塩素により消毒している。塩素消毒をする際に投入する遊離塩素は下水処理水中に含まれるアンモニアと反応して、結合型残留塩素であるクロラミン（ NH_2Cl ）を生成する。つまり塩素消毒されている下水処理

水中にはアンモニアとクロラミンが共存することが多いが、これらの複合作用による水生生物への影響が大きいと報告されている (Newman and Perry, 1989 ; 鈴木ら, 1996)。

西除川下流域 (大和川合流前) が流れる大阪府堺市では下水道普及率が99%を超えており (大阪府都市整備部下水道室, 2014), 西除川に流入する遊離アンモニアのほとんどは下水処理水から排出されたものであると考えられる。西除川の下流域に位置する下水処理場では塩素消毒が行われているため、排水にはクロラミンが含まれていると推察される。クロラミンは遊離塩素に比べ残留性は高いとされるが、数日間で1/10程度まで減少するとされている (杉山ら, 2010)。河川水濃縮試験では、クロラミンの測定は行わなかったが、採水後にろ過や凍結濃縮するために2日間以上の時間を要したため、試水中のクロラミン濃度は減少していたと考えられる。そこで、クロラミンが遊離アンモニアと共存することで遊離アンモニアの毒性に与える影響を明らかにするために、クロラミン複合影響試験を行った。

材料と方法

供試魚 河川水濃縮試験と同様に、体長40mm程度 (体長 39 ± 1.7 mm, 体重 0.33 ± 0.033 g) のアユ稚魚を供試魚とした。マリンテック株式会社 (愛知県田原市) において海水で生産された人工種苗を入手し、2014年1月9日～10日にかけて、塩分およそ10の汽水に収容して公益財団法人海洋生物環境研究所中央研究所 (千葉県夷隅郡御宿町) (以後、海生研とする) へ輸送した後、飼育水槽 (3,000L容円形水槽) に収容し、1週間かけて淡水へと馴致した。水温調整は行わず、活性炭ろ過器 (PCF-200A, オルガノ) により塩素除去した水道水 (13℃～16℃) を用い、換水率がおおよそ2回～3回/日になるようにかけ流した。試験開始前日に、試験に

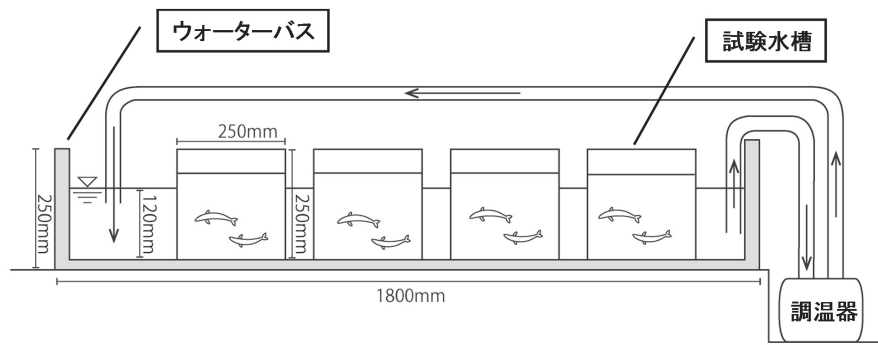
供する稚魚のみ馴致水槽 (600L容円形水槽) に移し、活性炭ろ過器により塩素除去した水道水を用いた止水状態で温度馴致した。石英ガラス製の投げ込み式ヒーター (耐酸ヒーター S-1, テックジャム) とサーモコントローラー (TC-101, IWAKI PUMPS) により17℃程度に調整した。温度馴致中は餌止めした。

試験水 クロラミン濃度は予備試験の結果より0.015mg/L, 0.035mg/L, 0.065mg/Lとし、遊離アンモニア濃度は予備試験や河川水濃縮試験の結果より、1.2mgN/Lを最大とし、対数値で4分割となるように、0.68mgN/L, 0.38mgN/L, 0.21mgN/L, 0.12mgN/L, 0.068mgN/L, 0.038mgN/Lのうちの6段階とした (第5表)。また、馴致水 (塩素除去した水道水) を用いた試験も実施した。

遊離アンモニア濃度とクロラミン濃度は、活性炭ろ過器により塩素除去した水道水に塩化アンモニウムおよび7%次亜塩素酸ナトリウムを添加することにより調整した。アンモニア態窒素とクロラミンの測定は分光光度計 (UVmini-1240, SHIMADZU) を用い、それぞれインドフェノール青法とジエチル-p-フェニレンジアミン (DPD) 法に準じ測定した (市川ら, 2002 ; 杉山ら, 2010)。ただし、クロラミンの測定下限値が0.02mg/Lであり、本試験におけるクロラミン濃度が測定下限値と同程度であったため、測定が不可能もしくは測定誤差が大きくなる。そこで、設定濃度の10倍高い濃縮水を測定し、その濃縮水を10倍に希釈することで試水とした。アンモニア態窒素濃度は試験開始前と終了後に測定したが、クロラミンに関しては開始前の10倍濃縮水のみを測定した。試験開始時と終了時に水温とpHをpHメーター (pH340i, WTW) により測定し、試験終了時の遊離アンモニア濃度をアンモニア態窒素濃度と水温、pHから算出した。試験開始時に溶存酸素飽和度をDOメーター (Multi3410, WTW) により測

第5表 クロラミン複合影響試験におけるクロラミンと遊離アンモニアの設定濃度

試験日	クロラミン濃度 (mg/L)			遊離アンモニア濃度(mgN/L)				
2014年1月22日～24日	0.015	0.038	0.068	0.12	0.21	0.38	0.68	—
2014年1月29日～31日	0.035	—	0.068	0.12	0.21	0.38	0.68	1.2
2014年1月27日～29日	0.065	0.038	0.068	0.12	0.21	0.38	0.68	—



第8図 クロラミン複合影響試験に用いた試験装置の模式図。

定した。

試験装置と方法 試水は10L、1辺が250mmの立方体のガラス水槽を試験水槽とし（第8図）、各濃度につき3水槽とした。プラスチック製ウォーターバス（縦1,650mm、幅900mm、高さ250mm）を2個用意し、それぞれに10個の試験水槽を収容した。水温は調温器（CB100、アクア）により17℃程度に保った。馴致水を入れた水槽については、各ウォーターバスに1個ずつ収容した。

供試魚は1水槽あたり7個体とし、試験開始から1時間後、2時間後、3時間後、6時間後、12時間後、24時間後、48時間後の生残個体数を記録した。なお、クロラミンの減少を最低限に抑えるため、試験中は通気せず、密閉した状態で試験を行い、試水の交換は行わなかった。溶存酸素飽和度が減少すると考えられたため、試験中のクロラミンと溶存酸素飽和度の低下を確認するための予備試験を実施した。クロラミンは前述の通り、検出下限値が0.02mg/Lであるため試験濃度は0.055mg/L、0.083mg/L、0.14mg/Lの3段階とし、遊離アンモニア濃度はいずれも0.068mgN/Lとした。なお、このクロラミン濃度ではアユ稚魚は数時間以内に全て死亡してしまうため、供試魚は入れずに試験を行った。クロラミンも遊離アンモニアのいずれも添加していない塩素除去した水道水にアユ稚魚7個体を収容し、溶存酸素飽和度の減少を確認した。

結 果

クロラミンと溶存酸素飽和度の低下 クロラミン残存率（初期濃度に対する各測定時の濃度の割合）と溶存酸素飽和度の48時間の変化を第9図に示す。クロラミンは48時間後で初期濃度の65%以上

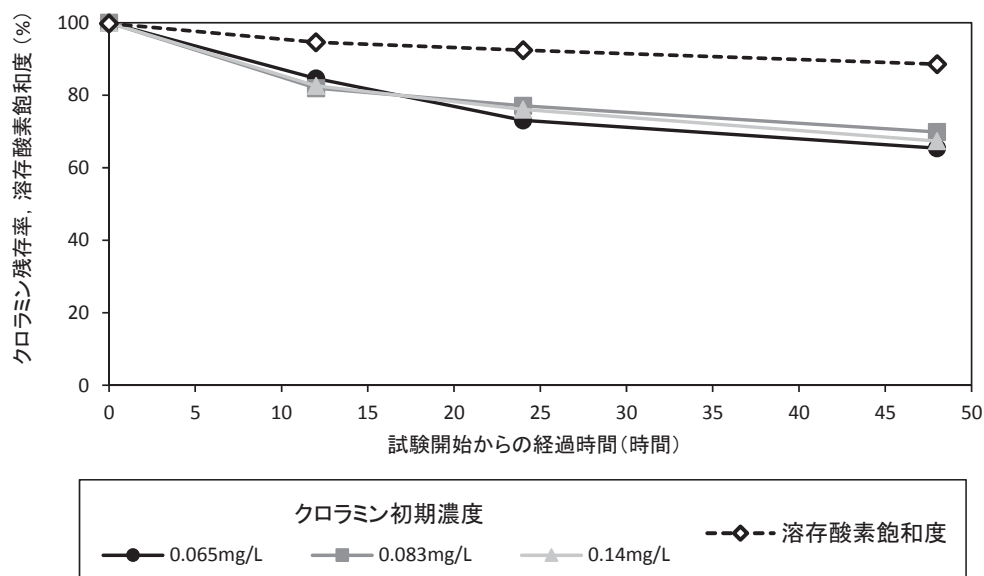
を維持しており、初期濃度による残存率の違いはなかった。このことから、低濃度であるため濃度が測定できなかったクロラミン濃度0.015mg/L、0.035mg/Lにおいても、65%程度は残存していたと考えられる。

一方、溶存酸素飽和度は48時間後でも90%程度と高い値を示していた。試験中に供試魚の死亡が確認された試験水槽内では、死亡した個体の酸素消費がなくなるため、90%以上の高い溶存酸素飽和度を維持していたと考えられた。溶存酸素飽和度の低下は供試魚の生残に影響を及ぼさなかったと考えられる。

アユ稚魚の死亡 試験終了時の水温、pH、アンモニア態窒素濃度と遊離アンモニア濃度を第6表に示す。アンモニア態窒素濃度が高くなるにつれpHが低下したが、これはpHの調整を行わなかったため、溶解すると弱酸性を示す塩化アンモニウムの添加量が増すことで、pHが低下したためであると考えられる。そのため遊離アンモニア設定濃度の高い試験において設定濃度よりも試験濃度が低くなってしまったが、すべてのクロラミン濃度において、死亡率が0%～100%の範囲であったことから、クロラミンと遊離アンモニアの複合影響を確認するうえで障害にはならなかったと判断する。

各クロラミン濃度における遊離アンモニア濃度の対数値と48時間後の死亡率との関係を見ると（第10図）、すべてのクロラミン濃度において、遊離アンモニア濃度と死亡率には有意な正の相関が確認された（線形回帰分析、 $P < 0.05$ ）。クロラミン濃度が0.015mg/L、0.035mg/L、0.065mg/Lにおける遊離アンモニアの48時間半数致死濃度はそれぞれ0.25mgN/L、0.22mgN/L、0.10mgN/Lであった。

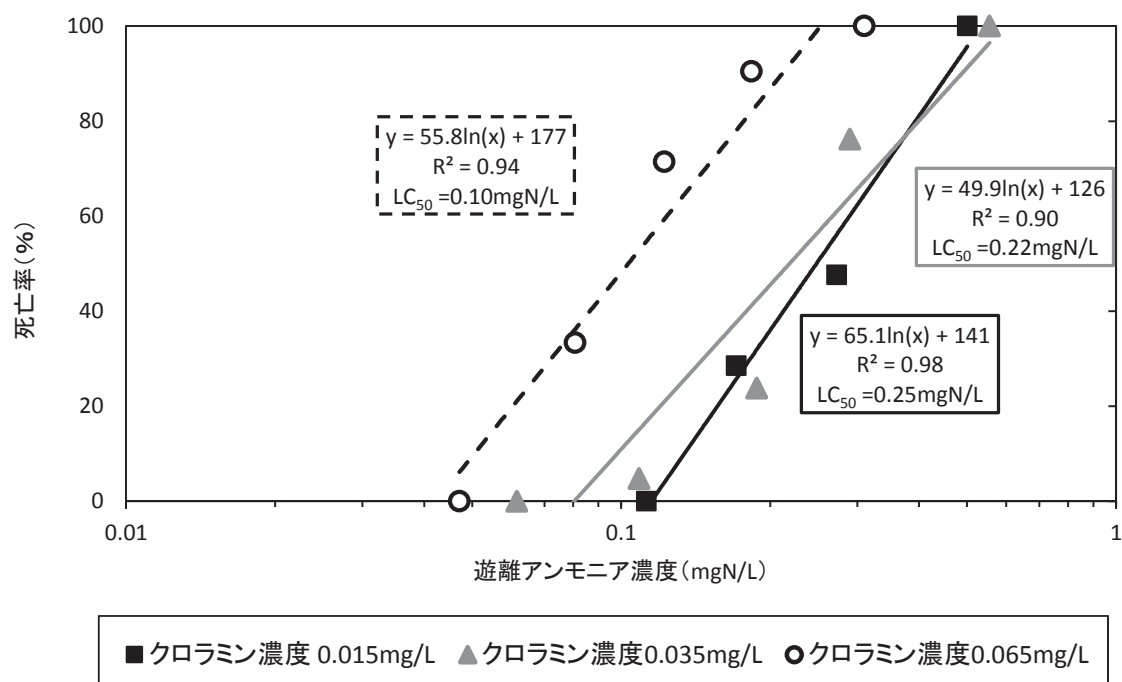
恩地：遊離アンモニアがアユに及ぼす影響



第9図 急性毒性試験におけるクロラミン残存率と溶存酸素飽和度の時間変化。

第6表 クロラミン複合影響試験における水温，pH，アンモニア態窒素濃度と遊離アンモニア濃度

クロラミン濃度	遊離アンモニア 設定濃度区	水温 (℃)	pH	アンモニア態窒素濃度 (mgN/L)	遊離アンモニア濃度 (mgN/L)
0.015mg/L	0.038mgN/L区	16.7	7.62	3.18	0.040
	0.068mgN/L区	16.8	7.58	5.77	0.068
	0.12mgN/L区	16.7	7.55	10.3	0.11
	0.21mgN/L区	16.9	7.47	18.5	0.17
	0.38mgN/L区	17.0	7.42	32.9	0.27
	0.68mgN/L区	17.0	7.35	71.6	0.50
0.035mg/L	0.068mgN/L区	17.0	7.56	5.39	0.062
	0.12mgN/L区	16.8	7.52	10.7	0.11
	0.21mgN/L区	17.0	7.45	21.3	0.19
	0.38mgN/L区	16.7	7.37	40.5	0.29
	0.68mgN/L区	16.8	7.33	88.8	0.56
	1.2mgN/L区	16.7	7.31	159	0.99
0.065mg/L	0.038mgN/L区	16.7	7.62	3.69	0.047
	0.068mgN/L区	16.9	7.59	6.66	0.081
	0.12mgN/L区	17.0	7.55	11.0	0.12
	0.21mgN/L区	17.0	7.48	19.6	0.18
	0.38mgN/L区	17.0	7.36	43.6	0.31
	0.68mgN/L区	16.8	7.33	90.2	0.59



第10図 各クロラミン濃度における遊離アンモニア濃度と48時間後死亡率との関係。

考 察

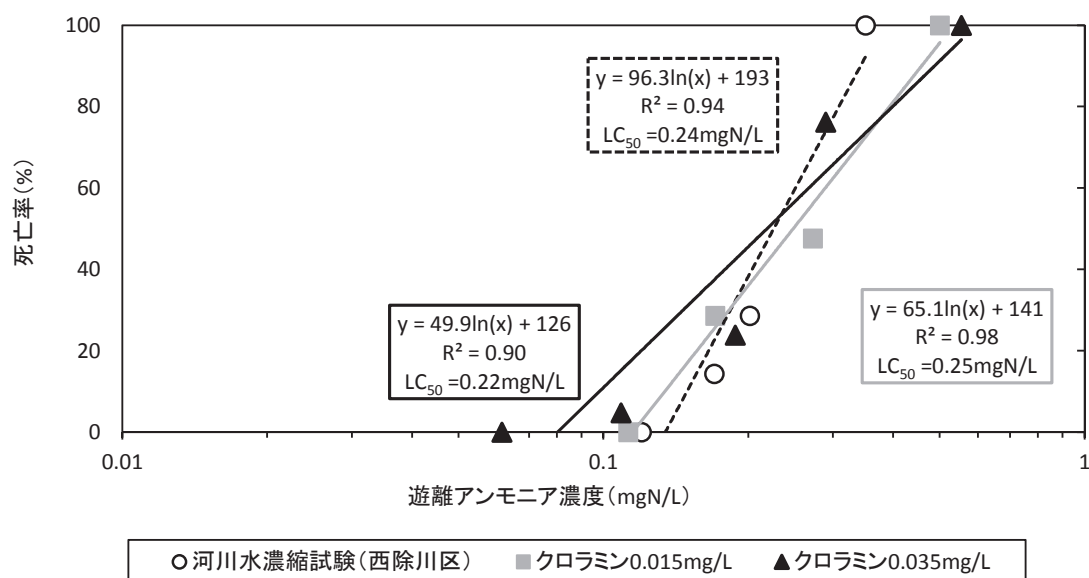
クロラミンによる複合影響 遊離アンモニアの48時間半数致死濃度は、クロラミン濃度が0.015mg/L、0.035mg/Lではほとんど違いが無く、クロラミンによる影響は確認されなかった。一方、クロラミン濃度が0.065mg/Lでは半数致死濃度が0.015mg/Lや0.035mg/Lと比べ、半分以下の低い値であり、クロラミンが混在することで低濃度の遊離アンモニアでアユ稚魚が死亡するという複合影響が確認された。

河川水濃縮試験（西除川区）とクロラミン複合影響試験におけるクロラミン濃度0.015mg/L、0.035mg/Lの3試験について遊離アンモニア濃度と48時間後のアユ稚魚の死亡率との関係を第11図に示す。河川水濃縮試験（西除川区）における遊離アンモニアの48時間半数致死濃度（0.24mgN/L）は、複合影響が確認されなかったクロラミン濃度0.015mg/L、0.035mg/Lにおける48時間半数致死濃度（0.25mgN/L、0.22mgN/L）と同程度であったことから、西除川河川水のアユ稚魚に対する毒性は他の物質との複合影響は無く、遊離アンモ

ニア単体による毒性であったと考えられる。

以上のことより、アユに対する遊離アンモニアの48時間半数致死濃度は0.2mgN/L程度であると考えられる。水産用水基準の急性毒に対する基本的な考えである「48時間半数致死濃度の1/10以下の濃度を水産用水基準とする。（日本水産資源保護協会、1980）」を基に、48時間半数致死濃度の1/10である0.02mgN/Lをアユ稚魚に対する遊離アンモニア濃度の影響指標値と考える。これは、菊池・若林（1997）が河川の水生生物が正常に生息し繁殖するための遊離アンモニア濃度のリスク評価指標値としている0.02mgN/Lと一致した。

大和川下流域のアユに及ぼす影響 大和川下流域の水質調査の結果とこの影響指標値（0.02mgN/L）を比較すると、西除川、西除川合流後の左岸側、阪神高速湾岸線下で影響指標値よりも高い値を示した。特に西除川や大和川河口域の遊離アンモニア濃度が接岸期のアユ稚魚の生存に影響を与える恐れのある濃度であることは、天然アユの遡上数が増加しない原因の一つである可能性がある。



第11図 河川水濃縮試験（西除川区）およびクロラミン複合影響試験における遊離アンモニア濃度と48時間後死亡率との関係。

2. 遡上アユの行動に対する影響

1) 遊離アンモニアに対する忌避行動

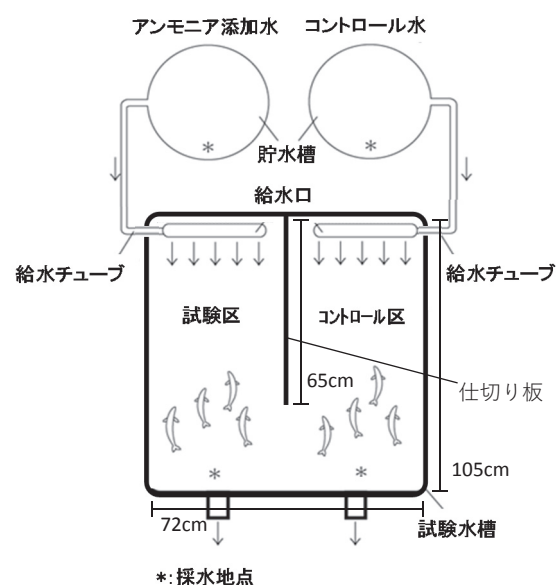
これまで述べたように、大和川の河川水にはアユ稚魚の生存に影響を及ぼす物質が含まれ、それが水中の遊離アンモニアである可能性が考えられた。そこで遡上前の河口域に蟄集する段階のアユが、河川水中の遊離アンモニアを感知し忌避する可能性について検討するため、伊藤ら（2001）の魚類忌避実験システムを参考に作成した試験装置を用いて、忌避行動試験を実施した。

材料と方法

供試魚 遡上を開始するサイズである体長60mm程度のアユ未成魚を供試魚とした。急性毒性試験と同様に、日高川漁協で生産された人工種苗を用いた。試験は日高川漁協の施設内で行い、選定したアユ未成魚を飼育水槽（2,000L容コンクリート水槽）で給餌飼育した。水温調整は行わず、地下水（水温13℃～16℃）をかけ流しとし、換水率はおおよそ2回/日とした。試験開始2日前に、試験に供する未成魚のみ馴致水槽（500L容パンライト水槽）に移し、地下水を用いて止水状態で温度馴致した。水温は遡上時期である5月の河川水温と同程度となるようICオートヒーター（トラスティ

200, GEX）により18℃程度に調整した。温度馴致中は餌止めした。

試験装置 長さ、幅、高さがそれぞれ105, 72, 30cmのプラスチック製水槽の上流の中央に長さ65cmの仕切板を取り付けたものを試験水槽とした（第12図）。馴致に用いた地下水（以後、コン



第12図 忌避行動試験に用いた試験装置の模式図。

第7表 忌避行動試験におけるコントロール水とアンモニア添加水の切り替え

時間	左側	右側
10:00～10:20	コントロール水	コントロール水
10:20～10:40	コントロール水	アンモニア添加水
10:40～11:00	アンモニア添加水	コントロール水
11:00～11:20	コントロール水	アンモニア添加水
11:20～11:40	アンモニア添加水	コントロール水

コントロール水とする), およびアンモニアを添加した地下水(以後, アンモニア添加水とする)を満たした2つの貯水槽(100L容パンライト水槽)から, 給水チューブを通してコントロール水およびアンモニア添加水をそれぞれ20L/minの流量で試験水槽にかけ流した(以後, コントロール水を注入した区画をコントロール区とし, アンモニア添加水を注入した区画を試験区とする)。なお, 給水チューブの先端を入れ替えることでコントロール区と試験区を切り替えることができる。

試験水 急性毒性試験結果では, アユ稚魚に対する遊離アンモニアの48時間半数致死濃度が0.2mgN/Lであったため, 試験濃度の最高値を生残が困難な濃度として0.30mgN/Lとした。その他の濃度は毒性に関する生物試験法に準じ(日本水産資源保護協会, 1980), 対数値で4分割となるよう0.17mgN/L, 0.095mgN/L, 0.053mgN/Lに設定した。試水のアンモニア態窒素濃度は地下水に塩化アンモニウムを添加することにより調整した。また, pHは地下水のpH(7.25)となるよう0.1mol/L水酸化ナトリウム(NaOH)溶液と0.1mol/L塩化水素(HCl)水溶液を用いて調整し, pH計(Multi3410, WTW)により測定した。

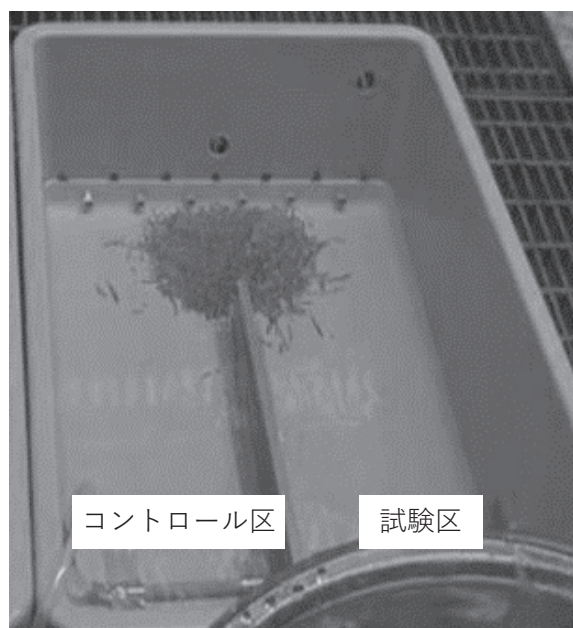
各試験終了時に貯水槽内のコントロール水, アンモニア添加水と試験水槽内のコントロール区と試験区の下流部の計4点(第12図)において250mLのプラスチック製ボトルにより採水して水温, pH, アンモニア態窒素濃度を測定し, 遊離アンモニア濃度を算出した。また, コントロール水とアンモニア添加水との混合率については, コントロール水のアンモニア態窒素濃度(0.15mgN/L)が低い値(アンモニア添加水の最低濃度である9.86mgN/Lに比べて60分の1以下)であったことから, コントロール区と試験区で検出されたアンモニア態窒素はアンモニア添加水由来のものと

みなし, コントロール区, 試験区それぞれの水槽下流部の採水点におけるアンモニア態窒素濃度をアンモニア添加水の濃度で除したものをアンモニア添加水の混合率とした。

試験条件とデータ解析 試験は2011年3月1日から9日にかけて行い, 毎日午前10時にまず左右両側の給水口からコントロール水を流し, 20分後に右側の給水口からコントロール水を左側からはアンモニア添加水を注入した。その後20分毎にコントロール区と試験区を切り替えた(第7表)。供試魚は試験前日の17時にコントロール水を入れた試験水槽に移し, 順応させた。水槽は2つ用意し, 各水槽の供試魚は20個体とし, 試験時の水温はICオートヒーターにより18℃程度に調整した。

供試魚の行動はビデオカメラ(HDC-SD5, Panasonic)により貯水槽の上部から連続撮影し, 切り替え作業による影響を除外するため, 試験開始もしくは試験水の切り替え5分後から15分後の10分間を解析に使用した。解析には2次元動画像移動解析システム(Image Tracker PTV, デジモ)を用いたが, これは定位置から撮影した画像を重ね合わせることで, 移動の軌跡を画像化するシステムであり, 本試験では1秒間に10枚, 10分間で計6,000枚の静止画を重ね合わせて軌跡画像とした(第13図)。ここで第13図の上部の黒くなっている箇所が, 供試魚20個体が10分間で移動した軌跡であり, この範囲を分布範囲とし, その面積を総分布面積とした。総分布面積に対する試験区の分布面積の割合を分布率とし, 分布率が50%よりも低い場合にアユ未成魚が遊離アンモニアを忌避したとみなした。各濃度間での比較には, 統計解析ソフト(GraphPad Prism 5J, GraphPad Software Inc)を用い, 一元配置分散分析およびTukeyの多重比較検定を行った。 $P < 0.05$ を有意水準とした。

結 果



第13図 忌避行動試験における供試魚の移動軌跡画像の例。

遊離アンモニアが忌避行動に及ぼす影響 忌避行動試験終了時における水温，pH，アンモニア態窒素濃度とそれらより算定した遊離アンモニア濃度ならびにコントロール区と試験区におけるアンモニア添加水の混合率を第8表に示す。各試験におけるアンモニア添加水の遊離アンモニア濃度は0.055mgN/L，0.094mgN/L，0.18mgN/L，0.30mgN/Lと概ね計画した濃度であり，供試魚のアンモニア排泄などによる影響は無かったといえる。コントロール区におけるアンモニア添加水の混合率は10%～16%，また試験区におけるアンモニア添加水の混合率は76%～84%と，両区には明確な違いが確認されており，試験水槽下流部においてもアンモニア添加水とコントロール水は分離されていたといえる。なお，すべての試験において試験区およびコントロール区の水温とpHには違いがほとんどなかった。

第8表 忌避行動試験終了時における水温，pH，アンモニア態窒素濃度，遊離アンモニア濃度と混合率

遊離アンモニア 設定濃度区	測定場所	水温 (°C)	pH	アンモニア態 窒素濃度 (mgN/L)	遊離アンモニア 濃度 (mgN/L)	混合率 (%)
0.053mgN/L区	貯水槽(コントロール水)	17.8	7.22	0.15	8.3×10^{-4}	—
	貯水槽(アンモニア添加水)	17.7	7.23	9.86	0.055	—
	コントロール区	17.8	7.23	1.02	5.8×10^{-3}	10
	試験区	17.8	7.22	8.22	0.046	83
0.095mgN/L区	貯水槽(コントロール水)	17.5	7.24	0.14	7.9×10^{-4}	—
	貯水槽(アンモニア添加水)	17.4	7.25	16.40	0.094	—
	コントロール区	17.6	7.25	2.13	0.012	13
	試験区	17.5	7.26	12.80	0.076	78
0.17mgN/L区	貯水槽(コントロール水)	17.9	7.28	0.15	9.6×10^{-4}	—
	貯水槽(アンモニア添加水)	17.8	7.28	28.40	0.18	—
	コントロール区	17.8	7.29	4.56	0.030	16
	試験区	17.9	7.28	21.50	0.14	76
0.30mgN/L区	貯水槽(コントロール水)	18.1	7.27	0.16	1.0×10^{-4}	—
	貯水槽(アンモニア添加水)	18.2	7.27	47.50	0.30	—
	コントロール区	18.1	7.27	7.56	0.048	16
	試験区	18.3	7.26	39.80	0.25	84

出典；恩地・矢持(2015)

各試験中の分布率を第9表に示す ($n=8$, 切り替え4回 × 水槽2個)。遊離アンモニア濃度 0.055mgN/L 区～ 0.30mgN/L 区では、試験区の分布率に濃度間での有意差は認められなかった。 0.18mgN/L 以下の試験区では分布率が50%程度であり、試験区とコントロール区にほぼ均一に分布していたのに対して、遊離アンモニア濃度 0.30mgN/L 区では平均分布率が68%であり、遊離アンモニア濃度の高い試験区に多く分布する傾向がみられた。

各濃度別に試験水槽へのアンモニア添加水注入前と注入後の総分布面積を第10表に示す。アンモニア添加水注入前の分布面積は $810\text{cm}^2 \sim 960\text{cm}^2$ の範囲であり、試験区による違いは見られなかった。一方、注入後の総分布面積は、遊離アンモニア濃度が高まるにつれて拡大する傾向があり、注入前の面積との違いが大きくなった。特に、最高濃度の 0.30mgN/L 区における総分布面積

($1,500\text{cm}^2$) は、試験水槽の底面積の1/4にまで達し、遊離アンモニア濃度 0.053mgN/L 区および 0.095mgN/L 区に比べて、有意に大きくなった (ANOVA, $P < 0.05$)。

考 察

遡上時のアユは群れを作り上流へと移動していく傾向があり (塚本ら, 1975; 楠田, 1963), 特に狭い範囲で飼育されている人工種苗の場合は群れを作る傾向が強く、その群れの密度が大きくなるとされている (Tsukamoto and Uchida, 1990; Uchida *et al.*, 1990a; 内田, 1996)。また Fukuda *et al.* (2011) は 3.3cm/s 以上の流速に対して正の走流性を示し、特に群れ密度の大きいアユでは、流動環境が行動や移動に与える影響が強くなるとしている。本試験では人工飼育されたアユを用いており、密度の大きい群れを作る傾向が強く、流動による行動への影響を受けやすいアユであったと考えられる。試験水槽の断面積は約 180cm^2 (幅: 60cm , 水深: 3cm)、流量は 40L/min であるので、水槽内の平均流速は約 3.7cm/s となる。これは Fukuda *et al.* (2011) によれば、アユが走流性を示し得る流速であった。これらのことから、本試験の条件下では、アユは流れの方向に成群性を示しやすい状況であったと考えられる。

遊離アンモニアの濃度に関わらず、試験区における分布率に変化はなく、アユが高濃度側を忌避するような行動は確認されなかった。一方で、遊離アンモニア濃度の増加に伴い分布範囲の面積が有意に増加した。遊離アンモニア濃度 0.30mgN/L 区におけるアンモニア水注入前後の典型的な行動パターンをみると (第14図), アンモニア注入前には各水槽において群れたアユが正の走流性を示し、仕切りの末端付近を中心に群れを形成し、上流に頭を向けて定位する傾向があったのに対して、注入後では群れの中心の位置は注入前と同様であったが、遊泳方向にばらつきが生じ、群れから離れて泳ぐ個体も多かった。このことから、アユは高濃度の遊離アンモニアに曝露されることにより、低濃度側に忌避するのではなく、群れから離脱する個体が増加して総分布面積が拡大するものと推察される。群れからの離脱要因としては走流性の低下などが考えられる。

第9表 各遊離アンモニア設定濃度区における分布率

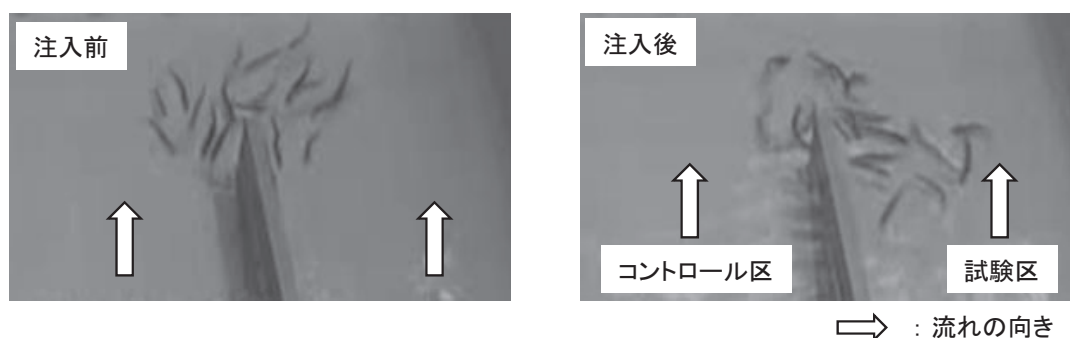
遊離アンモニア 設定濃度区	分布率 (%)
0.053mgN/L 区	49 ± 31
0.095mgN/L 区	46 ± 23
0.17mgN/L 区	45 ± 12
0.30mgN/L 区	68 ± 16

出典; 恩地・矢持 (2015)

第10表 各遊離アンモニア濃度区における総分布面積

遊離アンモニア 設定濃度区	総分布面積 (cm^2)	
	注入前	注入後*
0.053mgN/L 区	900 ± 10	$830^a \pm 110$
0.095mgN/L 区	810 ± 21	$1,100^b \pm 190$
0.17mgN/L 区	930 ± 110	$1,300^{bc} \pm 390$
0.30mgN/L 区	960 ± 47	$1,500^c \pm 250$

* 異なるアルファベットは遊離アンモニア設定濃度区間の注入後の総分布面積に有意差があったことを示す (ANOVA, $P < 0.05$)。



第14図 遊離アンモニア濃度0.30mgN/L区におけるアンモニア添加水注入前後の典型的な定位位置（左：アンモニア注入前，右：アンモニア注入後）。

2) 遊離アンモニアのとびはね行動に対する影響

遡上時期のアユは落水による音や流れの刺激（落水刺激）を受けると上流に向かい、とびはねて遡上を試みる事が知られており、とびはね行動と遡上行動には密接な関係があるとされている（塚本，1988；Tsukamoto *et al.*, 1990；Uchida *et al.*, 1990b）。そのとびはね行動を指標とし、遊離アンモニアが遡上行動に及ぼす影響を明らかにするため、2011年にとびはね行動試験を行った。また、クロラミンと遊離アンモニアが遡上行動に及ぼす複合影響を明らかにするために、2014年にとびはね行動複合影響試験を行った。

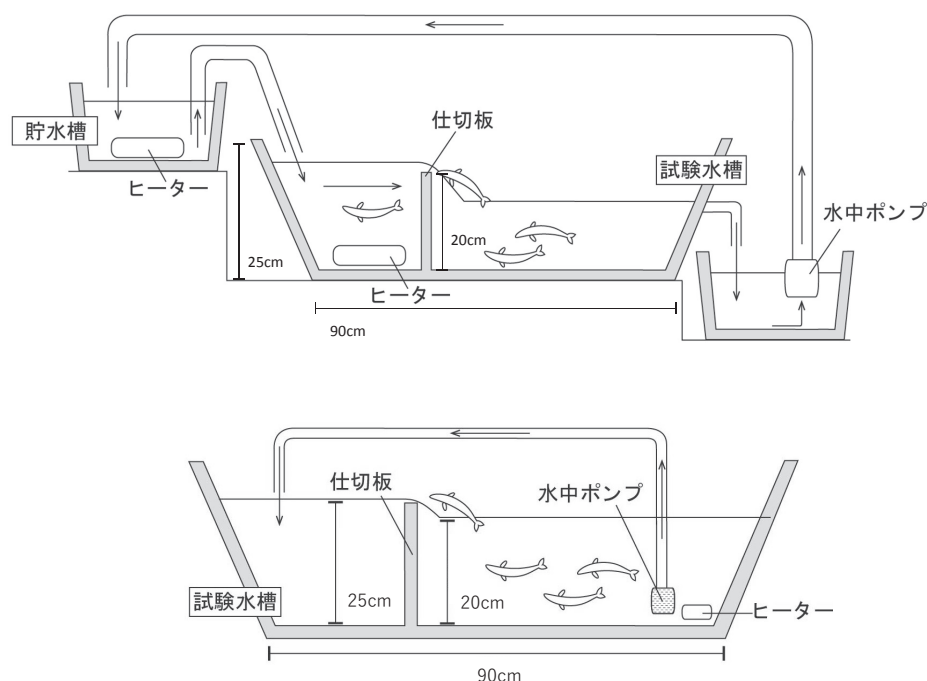
材料と方法

供試魚 とびはね行動試験では、試験実施場所、供試魚の産地やサイズ、飼育方法、温度馴致方法などについては忌避行動試験と同様とした。

とびはね行動複合影響試験では、一般財団法人神奈川県内水面漁業振興会鮎種苗生産センター（神奈川県相模原市）（以後、種苗センターとする）において生産された体長60mm程度のアユ未成魚を供試魚とした。孵化後から体重がおよそ0.8gまでの期間は1/5濃度の人工海水で、その後は淡水で飼育されたものである。供試魚は2014年2月21日に種苗センターから海生研まで輸送した後、飼育水槽（3,000L容円形水槽）において給餌飼育した。水温調整は行わず、活性炭ろ過器（PCF-200A, オルガノ）により塩素除去した水道水（水温13℃～16℃）をかけ流しとし、換水率はおおよそ2～3回/日とした。試験開始2日前に、試験に供する未成魚のみ馴致水槽（600L容円形水槽）に移し、塩

素除去した水道水を用いて止水状態で温度馴致した。水温はTi製投げ込みヒーター（1,000W，日東機材）とサーモコントローラー（HC-100，IWAKI PUMPS）により17℃程度に調整した。温度馴致中は餌止めした。

試験装置 長さ、幅、高さがそれぞれ105cm，72cm，30cmのプラスチック製水槽に幅、高さ、厚みがそれぞれ72cm，25cm，1cmの仕切板を取り付けたものを試験水槽とした。とびはね行動試験では、試験水は仕切板の上流部に貯水タンクから供給し、仕切板の両端から下流部へと流下させ、試験水槽の下流部から排出された試験水を水中ポンプ（SUPER ACE，寺田ポンプ制作）により貯水タンクへと循環させた（第15図）。とびはね行動複合影響試験では、試験水槽の下流部に設置した水中ポンプ（RSD-40A，IWAKI PUMPS）により、下流部から上流部へと試験水を循環させた（第15図）。全長70mm（体長60mm程度）のアユの巡航速度は50～70cm/sとされているため（塚本ら，1975），供給する流量を35L/minとし、仕切板の両端5cmを1cm低くし、そこから試験水を流下させることで、越流部の流速をおおよそ60cm/sとした。なお、上流部に試験水を供給する際に、水面上約5cm上の位置から流すことで、落水刺激を与えた。全供試魚のうち仕切板をとび越えて上流部に達した個体の割合をとびはね率とした。なお、遊離アンモニアの影響によるとびはね率の低下を明確にするためには、遊離アンモニアを添加していないコントロール水でのとびはね率が高い必要がある。しかし逆に全個体がとびはねることのできる状況では、遊離アンモニアによる軽微な影響を確



第15図 とびはね行動試験に用いた試験装置の模式図（上：とびはね行動試験，下：とびはね行動複合影響試験）。

認することができない可能性があるため、コントロール水でのとびはね率が90%程度であることが妥当であると考えた。そこで、コントロール水を用いた予備試験を実施し、その結果から仕切板の上流部と下流部の落差を5cmとした。

試験条件と試験水 とびはね行動試験は2011年3月14日から18日に、とびはね行動複合影響試験は2014年3月8日から14日に行い、試験時間は9時から16時までの7時間とした。試験前日の17時に試験水を入れた水槽に供試魚を収容することにより試験水に曝露した。曝露中はエアープンプにより通気し、とび出し防止のためアクリル板で水槽にフタをした。各試験水槽の供試魚は30個体とし、試験水槽を5つ用意して各濃度につき5試験を実施した。曝露中および試験中の各水槽内の水温は石英ヒーター（300W, 日成産業）とICサーモスタット（DX-003, GEX）により調整し、とびはね行動試験では18℃程度、とびはね行動複合影響試験では17℃程度とした。

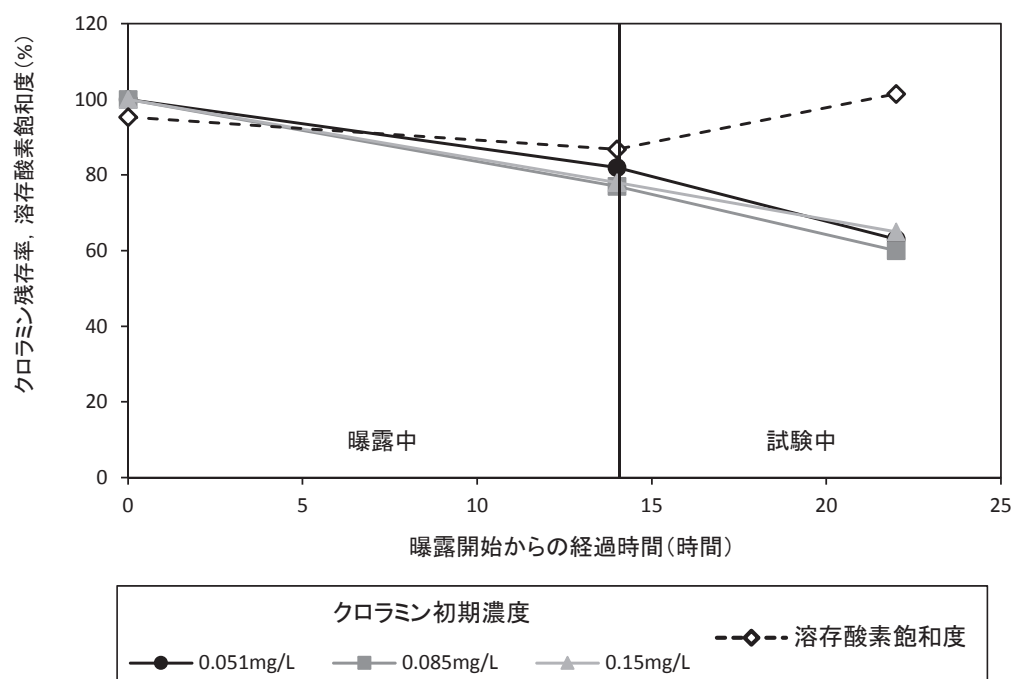
とびはね行動試験において、遊離アンモニアの試験濃度は忌避行動試験と同様に、地下水に塩化アンモニウムを添加し、対数値で4分割となるよう0.30mgN/L, 0.17mgN/L, 0.095mgN/L, 0.053mgN/L

Lとした。なお、遊離アンモニアを添加していない地下水（コントロール区）についても試験を行った。

とびはね行動複合影響試験では、活性炭ろ過器により塩素除去した水道水に塩化アンモニウムと7%次亜塩素酸ナトリウム水を添加することにより、クロラミン濃度を0.015mg/L, 0.025mg/L, 0.035mg/Lとし、遊離アンモニア濃度は各クロラミン濃度に対して0.30mgN/L, 0.17mgN/L, 0.095mgN/L, 0.053mgN/L, 0.030mgN/L, 0.017mgN/Lのうち4段階に設定した（第11表）。なお、遊離アンモニアやクロラミンを添加していない地下水（コントロール区）についても試験を実施するとともに、試験中の溶存酸素量の低下を確認するため、曝露開始時（前日18時）、試験開始直前（当日9時）、試験終了時（当日16時）に溶存酸素飽和度を測定した。また、試験中のクロラミン濃度の減少を確認するために、初期濃度を0.051mg/L, 0.085mg/L, 0.15mg/Lの3段階に設定した高濃度クロラミン水を用いた確認試験を実施した。確認試験では、供試魚は使わず、ポンプ稼働時間などの条件は試験条件と同様とし、曝露開始時、試験開始直前と試験終了時にクロラミン濃度を測定した。

第11表 とびはね行動複合影響試験における各クロラミン濃度に対する遊離アンモニアの設定濃度

クロラミン濃度 (mg/L)	遊離アンモニア濃度(mgN/L)					
0.015	—	—	0.053	0.095	0.17	0.30
0.025	—	0.030	0.053	0.095	0.17	—
0.035	0.017	0.030	0.053	0.095	—	—



第16図 とびはね行動複合影響試験におけるクロラミン残存率と溶存酸素飽和度の時間変化。

とびはね行動試験、とびはね行動複合影響試験において、試験終了時仕切板の上流および下流にいた個体をそれぞれ、とびはね個体および滞留個体とし、個体数、体長、体重を測定した。各濃度間でのとびはね率や平均体長、体重の比較には、統計解析ソフト（GraphPad Prism 5J, GraphPad Software Inc）を用い、一元配置分散分析およびTukeyの多重比較検定を行った。 $P < 0.05$ を有意水準とした。

結 果

クロラミンおよび溶存酸素飽和度の低下 確認試験における曝露中および試験中のクロラミン残存率（初期濃度に対する各測定時の濃度の割合）とコントロール試験における溶存酸素飽和度の変化

を第16図に示す。溶存酸素飽和度は、曝露中に87%まで低下したが、試験終了時には100%程度まで回復し、供試魚の行動や生存に影響を及ぼす値ではなかったと考えられる。クロラミン濃度は曝露後の14時間後に初期濃度の80%程度まで低下し、試験終了後の22時間後には初期濃度の60%程度まで低下した。初期濃度による残存率の違いは確認されず、とびはね行動複合影響試験に用いた低濃度のクロラミンについても残存率は60%程度であったと考えられる。

遊離アンモニアによる影響 とびはね行動試験終了時における水温、pH、アンモニア態窒素濃度とそれらより算定した遊離アンモニア濃度、および曝露中、試験中における供試魚の死亡数ととびはね率の平均値と標準偏差を第12表に示す。水温、

第12表 とびはね行動試験終了時における水温、pH、アンモニア態窒素濃度、遊離アンモニア濃度および死亡個体数ととびはね率

遊離アンモニア 設定濃度区	水温 (°C)	pH	アンモニア態 窒素濃度 (mgN/L)	遊離アンモニア 濃度 (mgN/L)	死亡個体数※ (尾)	とびはね率* (%)
0.053mgN/L区	17.9	7.21	10.8	0.059	0	67 ^b ± 11
0.095mgN/L区	18.2	7.23	17.8	0.10	0	53 ^c ± 9.7
0.17mgN/L区	17.8	7.25	31.5	0.19	0	39 ^d ± 5.1
0.30mgN/L区	18.3	7.23	56.1	0.33	20	31 ^d ± 5.5
コントロール区	18.1	7.25	0.15	9.5×10^{-4}	0	91 ^a ± 5.1

※ 供試個体数:150個体/試験区

* 異なるアルファベットは遊離アンモニア設定濃度区間のとびはね率に有意差があったことを示す (ANOVA, $P < 0.05$)。

出典; 恩地・矢持 (2015) を改変

第13表 とびはね行動試験終了時におけるとびはね個体と滞留個体の個体数、体長と体重

遊離アンモニア 設定濃度区	とびはね個体			滞留個体		
	個体数 (尾)	体長 (mm)	重量 (g)	個体数 (尾)	体長 (mm)	重量 (g)
0.053mgN/L区	101	64±5.7	N.D.	49	61±5.6*	N.D.
0.095mgN/L区	80	63±5.6	2.5±0.80	70	58±4.0*	1.9±0.47*
0.17mgN/L区	58	63±5.4	2.5±0.71	92	60±6.2*	2.1±0.79*
0.30mgN/L区	46	64±5.4	2.5±0.78	104	60±5.4*	2.0±0.66*
コントロール区	137	62±6.1	2.2±0.77	13	60±3.3	2.0±0.52

* とびはね個体との間に平均体長または平均体重に有意差があったことを示す (ANOVA, $P < 0.05$)。

出典; 恩地・矢持 (2015) を改変

pHはそれぞれ17.8°C～18.3°C, 7.21～7.25の範囲であり、濃度区による違いはほとんど無かった。遊離アンモニア濃度は概ね設定した濃度であった。

遊離アンモニア濃度0.30mgN/L区においては試験中に150個体中20個体のアユが死亡したが、死亡した個体も滞留個体とみなした。0.17mgN/L区と0.30mgN/L区との間以外の濃度間において有意差が確認され (ANOVA, $P < 0.05$)、遊離アンモニア濃度の上昇に伴い、とびはね率の低下が確認された。

とびはね行動試験におけるとびはね個体と滞留個体それぞれの個体数と体長、体重の平均値と標準偏差を第13表に示す。死亡個体については腐敗が進んでいたため、体長、体重の測定は行わなかった。遊離アンモニア濃度をほとんど含まないコントロール区ではとびはね個体と滞留個体の体長、

体重ともに有意な差は確認されなかったが、遊離アンモニア添加区では、すべての濃度においてとびはね個体が滞留個体よりも平均体長、平均体重ともに有意に大きく (ANOVA, $P < 0.05$)、その差はそれぞれ3mm～5mm, 0.3g～0.6gであった。

クロラミンによる複合影響 とびはね行動複合影響試験終了時の各クロラミン濃度における水温、pH、アンモニア態濃度とそれらより算定した遊離アンモニア濃度、および曝露中、試験中における供試魚の死亡数ととびはね率の平均値と標準偏差を第14表に示す。各クロラミン濃度において遊離アンモニアの設定濃度が0.095mgN/L区よりも低い濃度区においてはpHが7.6程度であり、コントロール区（塩素除去した水道水）の7.64と同程度であったのに対し、遊離アンモニアの設定濃度が0.17mgN/L区、0.30mgN/L区の場合、pHはそれ

第14表 とびはね行動複合影響試験終了時の各クロラミン濃度における水温、pH、アンモニア態窒素濃度、遊離アンモニア濃度と死亡個体数、とびはね率

クロラミン 初期濃度 (mg/L)	遊離アンモニア 設定濃度区	水温 (°C)	pH	アンモニア態 窒素濃度 (mgN/L)	遊離アンモニア 濃度 (mgN/L)	死亡個体数 (尾)	とびはね率* (%)
0.015	0.053mgN/L区	16.7	7.62	4.2	0.054	0	67 ^{a,1} ± 23
	0.095mgN/L区	16.8	7.60	7.5	0.091	0	43 ^{ab,1} ± 7.0
	0.17mgN/L区	16.7	7.52	16.1	0.16	31	33 ^{b,1} ± 7.4
	0.30mgN/L区	16.9	7.37	46.6	0.34	150	0
0.025	0.030mgN/L区	17.0	7.61	2.5	0.032	0	84 ^{a,1} ± 9.8
	0.053mgN/L区	17.0	7.63	4.4	0.058	0	54 ^{b,1} ± 11
	0.095mgN/L区	17.0	7.62	7.6	0.10	1	25 ^{c,2} ± 8.1
	0.17mgN/L区	16.8	7.49	18.3	0.17	42	20 ^{c,2} ± 4.7
0.035	0.017mgN/L区	17.0	7.61	1.4	0.017	0	83 ^a ± 8.8
	0.030mgN/L区	16.8	7.57	2.7	0.030	0	65 ^{a,1} ± 13
	0.053mgN/L区	16.7	7.59	4.5	0.054	3	19 ^{b,2} ± 9.1
	0.095mgN/L区	16.8	7.61	8.4	0.11	32	13 ^{b,3} ± 6.5
コントロール区		16.7	7.64	< 0.02	< 0.0003	0	83 ± 6.0

* 異なるアルファベットは同じクロラミン初期濃度で遊離アンモニア設定濃度区間のとびはね率に有意差があったことを示し、異なる数字は同じ遊離アンモニア設定濃度区でクロラミン初期濃度間のとびはね率に有意差があったことを示す (ANOVA, $P < 0.05$)。

第15表 とびはね行動複合影響試験終了時の各クロラミン濃度におけるとびはね個体と滞留個体の個体数、体長と体重

クロラミン 初期濃度 (mg/L)	遊離アンモニア 設定濃度区	とびはね個体			滞留個体		
		個体数 (尾)	体長 (mm)	重量 (g)	個体数 (尾)	体長 (mm)	重量 (g)
0.015	0.053mgN/L区	100	60 ± 2.5	1.9 ± 0.29	50	60 ± 2.9	1.9 ± 0.30
	0.095mgN/L区	65	59 ± 3.2	1.8 ± 0.28	85	59 ± 2.9	1.8 ± 0.28
	0.17mgN/L区	49	60 ± 2.3	1.9 ± 0.23	101	60 ± 2.7	1.9 ± 0.29
	0.30mgN/L区	0	N.D.	N.D.	150	N.D.	N.D.
0.025	0.030mgN/L区	126	59 ± 2.8	1.8 ± 0.26	24	60 ± 3.0	1.8 ± 0.26
	0.053mgN/L区	81	60 ± 2.7	1.8 ± 0.27	69	59 ± 3.3	1.7 ± 0.32
	0.095mgN/L区	38	60 ± 1.9	1.8 ± 0.26	112	60 ± 2.4	1.8 ± 0.23
	0.17mgN/L区	30	60 ± 3.0	1.9 ± 0.32	120	60 ± 3.4	2.0 ± 0.37
0.035	0.017mgN/L区	124	60 ± 3.4	1.9 ± 0.35	26	59 ± 3.1	1.8 ± 0.29
	0.030mgN/L区	98	59 ± 2.8	1.8 ± 0.29	52	60 ± 2.5	1.8 ± 0.25
	0.053mgN/L区	28	62 ± 3.2	2.1 ± 0.35	122	61 ± 3.3	1.9 ± 0.32
	0.095mgN/L区	19	62 ± 3.2	2.0 ± 0.35	131	60 ± 3.2	1.9 ± 0.31
コントロール区		125	59 ± 3.6	1.8 ± 0.31	25	58 ± 2.7	1.7 ± 0.30

ぞれ7.5, 7.4程度に低下したが、遊離アンモニア濃度は概ね設定していた濃度であった。

クロラミン濃度0.015mg/L試験において遊離アンモニア濃度0.30mgN/L区では150個体すべての供試魚が死亡しており、クロラミン濃度0.025mg/L試験において遊離アンモニア濃度0.17mg/L区では42個体が死亡するなど、曝露中や試験中に死亡が確認された濃度区があった。なお、死亡した個体はすべて滞留個体とみなした。

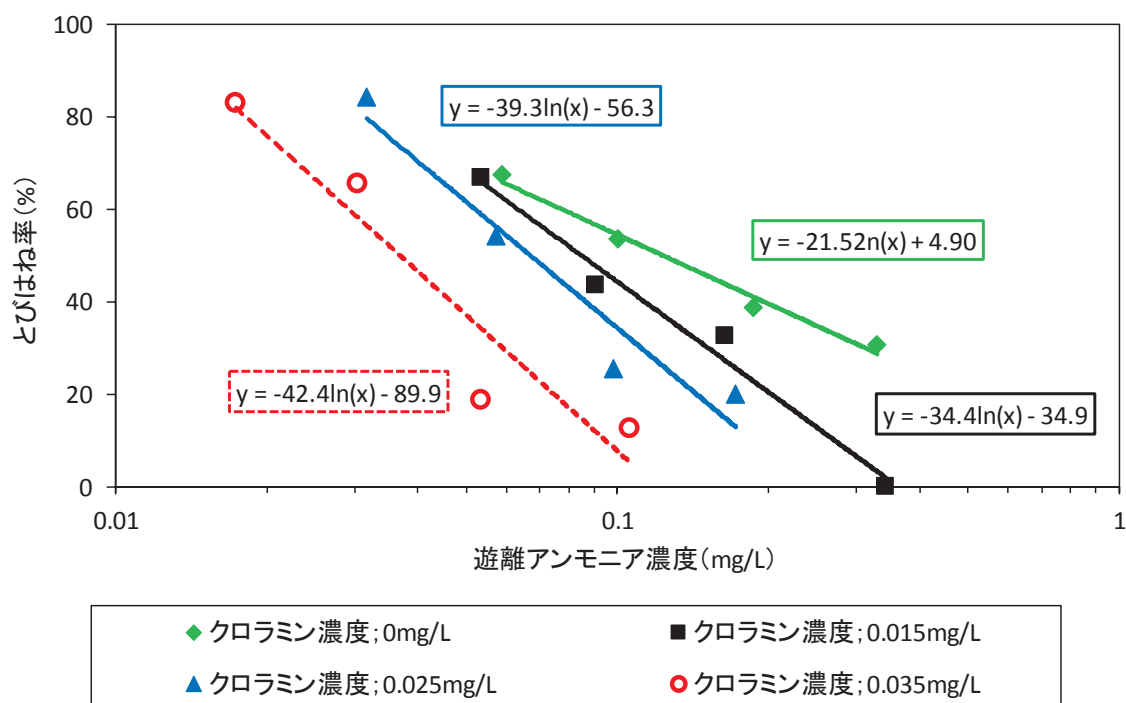
いずれのクロラミン濃度においても遊離アンモニア濃度の高濃度区と低濃度区では有意な差が確認され (ANOVA, $P < 0.05$), 0.015mg/L ~ 0.035mg/Lのクロラミン濃度において、遊離アンモニア濃度ととびはね率には負の関係が認められた。特にクロラミン濃度0.035mg/L試験では、遊離アンモニア濃度が0.030mgN/L区と0.053mgN/L区の場合で、とびはね率は65%と19%と大きく異なっていた。各遊離アンモニア濃度におけるクロラミン濃度間のとびはね率には、クロラミン濃度の増加に伴う低下が確認された。特に、遊離アンモニア設

定濃度が0.095mgN/L区では、すべてのクロラミン濃度間で有意な差が確認された (ANOVA, $P < 0.05$)。

とびはね行動複合試験におけるとびはね個体と滞留個体それぞれの個体数と体長、体重の平均値と標準偏差を第15表に示す。死亡個体については腐敗が進んでいたため体長、体重の測定は行わなかった。すべての試験において、とびはね個体と滞留個体では平均体長、平均体重には有意な差がなかった。

考 察

とびはね行動試験ととびはね行動複合影響試験の結果、遊離アンモニアとクロラミンともにアユのとびはね行動を阻害することがわかった。とびはね行動試験の結果をクロラミン濃度0mg/Lとし、各クロラミン濃度についてとびはね率と遊離アンモニアとの関係を対数近似した結果を第17図に示す。すべてのクロラミン濃度について、負の



第17図 とびはね行動試験ととびはね行動複合影響試験における遊離アンモニア濃度ととびはね率との関係。

相関関係が確認された（線形回帰分析， $P < 0.05$ ）。近似式からクロラミン濃度0mg/Lにおいて遊離アンモニアのみの影響をみると，急性毒性試験の結果より求めた，遊離アンモニアの48時間半数致死濃度である0.20mgN/Lにおいてはとびはね率が40%であると推定され，また，150個体中20個体が死亡した遊離アンモニア濃度0.33mgN/Lにおいても31%が上流側にとびはねることができた。一方で，河川水濃縮試験（西除川区）では48時間後の死亡率が0%であった遊離アンモニア濃度0.12mgN/Lにおいて（第2表），とびはね率が51%まで低下すると推定された。このように，急性毒性を示す程の高濃度の遊離アンモニア環境下においても上流を目指し，とびはね行動を行う一方で，急性毒性を示さない低濃度であっても半数のアユがわずか5cmの障害を飛び越えることができなくなるほどの影響を及ぼすことがわかった。遡上に関連するアユの特性として，遡上傾向（tendency）と遊泳力（ability）の2つがあげられる（Tsukamoto *et al.*, 1988, 1990）。アユの遡上傾向に強く影響するとされている血漿チロキシンの生成量は遺伝子や生息環境による差異が認められている（Tsukamoto *et al.*, 1988 ; Tsukamoto and Uchida, 1990）。本研究ではこの血漿チロキシンを測定してはいないが，同系統の親魚から産まれ，同じ環境下で飼育されたアユを用いているため，遺伝子や生息環境に大きな違いはなく，遡上傾向にも大きな違いはないと考えられる。遊泳力に影響を与える要因として，体サイズが考えられる。コントロール区を除く4試験すべてで滞留個体はとびはね個体よりも有意に小さい個体であったことから（第13表），遊泳力の弱い小型個体ほど遊離アンモニアの影響が大きかったと考えられる。

クロラミンによる影響では，対数近似曲線はクロラミン濃度の増加に伴い，遊離アンモニア濃度の低濃度側に移行し，その傾きが急になっていた（第17図）。近似式からみると，とびはね率が50%となる遊離アンモニア濃度はクロラミン濃度0.015mg/L，0.025mg/L，0.035mg/Lで，それぞれ0.087mgN/L，0.067mgN/L，0.037mgN/Lであった。急性毒性試験の結果と比較すると，クロラミン濃度0.015mg/L，0.035mg/Lにおいてほとんど急性毒性を示さなかった遊離アンモニア濃度0.12mgN/L区であっても（第9図），とびはね率への影響は大きく，クロラミン濃度0.015mg/L，0.025mg/L，0.035mg/Lにおいてそれぞれ42%，

31%，3.6%と推定され，クロラミン濃度0.035mg/Lではほとんどとびはねることができなくなるという結果であった。

とびはね行動試験の結果から，供試魚の体サイズがとびはね率に関わることが示唆されたが，とびはね行動複合影響試験では，とびはね個体と滞留個体との間に体長や体重の有意差が確認されなかった。とびはね行動試験ととびはね行動複合影響試験の供試魚の体サイズを比較すると，体長の平均値±標準偏差はそれぞれ61±5.7mmと60±3.3mm，体重では2.2±0.74gと1.9±0.32gであり，平均値は同程度であったが，標準偏差はとびはね行動試験の方が2倍程度大きかった。このことから，とびはね行動複合影響試験に供したアユはとびはね行動試験に比べ，体サイズのばらつきが小さかったため，とびはね個体と滞留個体に明瞭なサイズ差が生じなかったと考えられる。

曝露開始から試験終了までの22時間における供試魚の死亡率についてみると（第14表），クロラミン濃度0.015mg/L，遊離アンモニア濃度0.16mgN/L区において死亡率が21%（31個体）であり，急性毒性試験におけるクロラミン濃度0.015mg/L，遊離アンモニア濃度0.17mgN/L区の24時間後の死亡率0%よりも高く，48時間後の死亡率29%と同程度であった（第10図）。クロラミン濃度0.035mg/L，遊離アンモニア濃度0.11mgN/L区の死亡率21%（32個体）は急性毒性試験におけるクロラミン濃度0.035mg/L，遊離アンモニア濃度0.11mgN/L区の48時間後の死亡率5%よりも高く，遊離アンモニア濃度0.19mgN/L区の48時間後の死亡率28%と同程度であった。Thurston and Russo（1983）は，ニジマス *Oncorhynchus mykiss* の遊離アンモニアに対する感受性は稚魚期が最も低いと報告している。これらのことから，急性毒性試験に用いたアユ稚魚より行動試験に用いたアユ未成魚はクロラミンと遊離アンモニアに対して感受性が高く，特にクロラミン濃度が上昇するとその傾向が顕著になると推察される。

おわりに

急性毒性試験の結果，大和川の河川水にはアユ稚魚の生存に影響を及ぼす物質が含まれ，それが水中の遊離アンモニアである可能性が考えられた。水産用水基準に準じてアユ稚魚の生残に対する遊離アンモニアの影響指標値は，48時間半数致

死濃度の1/10とすると0.02mg/L程度と推定された。2009年に行った大和川下流域の水質調査の結果、最下流の河口域の調査点においてこの影響指標値よりも高い値を示しており、大和川下流域の遊離アンモニア濃度は接岸期のアユ稚魚の生残に影響を与える恐れのある濃度と考えられた。

忌避行動試験の結果、アユ未成魚は遊離アンモニアを忌避する行動を示さなかったことから、遡上する際に、遊離アンモニアを回避し他の河川や河川内の低濃度側を選択するという可能性は低いと考えられる。しかし、急性毒性を示さないような低濃度の遊離アンモニアであっても、とびはね行動への影響が確認され、さらにクロラミンが混在することによって、その影響が増大することが判明した。とびはね行動への影響は、主に遊泳力の低下によるものと推察されたことから、遊離アンモニア濃度やクロラミン濃度の高い河川では、遡上するアユの遊泳力が低下し、河川内にある岩や堰堤などのわずかな落差の障害物を乗り越えられなくなる危険性や、スズキ*Lateolabrax japonicus*などの肉食性魚類やカワウ*Phalacrocorax carbo*などの鳥類による食害の危険性などが増加することが懸念される。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、多大な助言を賜った大阪市立大学大学院工学研究科の矢持 進名誉教授に心より感謝申し上げます。公益財団法人海洋生物環境研究所の横田瑞郎主幹研究員、島 隆夫主幹研究員には、行動試験を行うにあたり、多くのご指導やご助力を頂きました。同研究所の三浦雅大主幹研究員には本論文をご精読頂き有用なコメントを、技術員や地域勤務職員の各位には供試魚の運搬、飼育などのご助力を頂きました。ここに深く感謝の意を表します。

また、本研究は河川環境管理財団の助成金により実施したことを記し、関係者各位に謝意を表します。

引用文献

Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B.S. and Srinath, E.G. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Water Pollut. Control. Fed.*, **48**, 835-852.

Fukuda, H., Torisawa, S., Yamane, T. and Takagi, T. (2011). Concernment of rheotactic reaction and schooling behaviour traits of the dwarf sweetfish, *Plecoglossus altivelis* on a capture process of the set-net “Eri”. *Fish. Eng.*, **48**, 117-124.

市川 貴大・高橋輝昌・浅野義人・小林達明 (2002). インドフェノール青法によるアンモニア態窒素の簡易定量法の検討. 日緑工誌, **27**, 623-626.

伊藤 康男・劉 海金・高久 浩・土田修二 (2001). オリマルジョンに対するサケ稚魚の忌避行動. 海生研報, **No. 3**, 27-38.

城戸勝利・渡辺康憲・中村幸雄・岡村武志 (1991). マダイ卵および仔稚魚の生残に及ぼすアンモニアの影響. 水産増殖, **39**, 353-362.

菊池幹夫・若林明子 (1997). アンモニア汚染の環境リスク評価. 東京都環境科学研究所年報, 143-148.

楠田理一 (1963). 海産稚アユの遡上生態—I 大雲川における遡上群の日週変化. 日水誌, **29**, 817-821.

中澤 隆・中野和彦・恩地啓実・浪田真由・矢持進・辻 幸一 (2012). 微小部蛍光X線分析法によるアユの耳石中のSr分布解析. 分析化学, **61**, 637-642.

浪田真由・恩地啓実・板谷天馬・中澤 隆・辻 幸一・矢持 進 (2014). 微小部蛍光X線分析法を用いた都市河川大和川におけるアユ遡上数の推定. 環境アセスメント学会誌, **12**, 101-108.

Newman, R.M. and Perry, J.A. (1989). The combined effects of chlorine and ammonia on litter breakdown in outdoor experimental streams. *Hydrobiologia*, **184**, 69-78.

日本水産資源保護協会 (1980). 新編水質汚濁調査指針. 恒星社厚生閣, 東京, 377-514.

沖野外輝夫 (2002). 河川の生態学. 共立出版, 東京, 92-121.

Onchi, H. and Yamochi, S. (2011). Occurrence of Ayu *Plecoglossus altivelis* at the mouth of the Yamato River, Japan. 日中科学技術交流シンポジウム論文集, **No. 3**, 39-42.

恩地啓実・矢持 進 (2011). 大和川下流域における稚アユの遡上阻害要因に関する研究—遊離アンモニアがアユ稚魚の生残に及ぼす影響—. 環境アセスメント学会誌, **9**, 62-68.

- 恩地啓実・矢持 進 (2015). アユの忌避行動ととびはね行動に対する遊離アンモニアの阻害効果について. 環境アセスメント学会誌, **13**, 79-85.
- 大阪府都市整備部下水道室 (2014). 平成24年度末大阪府下水道統計, 13-50.
- 大竹二雄 (2006). 海域におけるアユ仔稚魚の生態特性の解明. 水研センター研報, **No. 5**, 179-185.
- 嶋田啓一・後藤浩一・山本一生・和田吉弘 (2006). 長良川における稚アユ遡上量の予測に関する検討. 日水誌, **72**, 665-672.
- 島谷幸宏 (2000). 河川環境の保全と復元. 鹿島出版会, 東京, 2-9.
- 杉山寛治・小坂浩司・泉山信司・縣 邦雄・遠藤卓郎 (2010). モノクロミン消毒による浴槽レジオネラ属菌の衛生対策. 保健医療科学, **59**, 109-115.
- 鈴木祥広・森下玲子・丸山俊朗 (1996). 淡水産植物プランクトンの増殖阻害試験によるモノクロミンと塩素殺菌下水処理水の毒性評価. 水環境学会誌, **19**, 861-870.
- 田子泰彦 (1999). 庄川におけるアユ降下仔魚量の推定. 日水誌, **65**, 718-727.
- 田子泰彦 (2002). 富山湾の砂浜域砕波帯周辺におけるアユ仔魚の出現, 体長分布と生息場所の変化. 日水誌, **68**, 61-71.
- 高橋勇夫・東 健作 (2006). ここまでわかったアユの本. 築地書館, 東京, 1-246.
- 田辺陽一 (2006). アユ百万匹がかえってきた—いま多摩川でおきている奇跡—. 小学館, 東京, 1-240.
- Thurston, R.V. and Russo, R.C. (1983). Acute toxicity of ammonia to rainbow trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **112**, 696-704.
- 東京都島しょ農林水産総合センター (2012). 平成24年アユ遡上調査取りまとめ. http://www.ifarc.metro.tokyo.jp/22_1370944.html. (2014年5月20日アクセス)
- 塚本勝巳 (1988). アユの回遊メカニズムと行動特性. 「現代の魚類学」(上野輝彌・沖山宗雄編), 朝倉書店, 東京, 100-113.
- Tsukamoto, K., Aida, K. and Otake, T. (1988). Spacing and jumping behaviour of Ayu *Plecoglossus altivelis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1687-1693.
- 塚本勝巳・梶原 武・益田信之・森由基彦 (1975). 放流時における人工種苗アユの分散. 日水誌, **41**, 733-737.
- Tsukamoto, K., Masuda, S., Endo, M. and Otake, T. (1990). Behavioural characteristics of the Ayu, *Plecoglossus altivelis*, as predictive indices for stocking effectiveness in rivers. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1177-1186.
- Tsukamoto, K. and Uchida, K. (1990). Spacing and jumping behaviour of Ayu *Plecoglossus altivelis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1383-1392.
- 内田和男 (1996). アユの行動及び生理特性の育種効果評価に関する基礎的研究. 「新品種作出基礎技術開発事業研究成果の概要 平成7年度」(水産庁編), 水産庁, 東京, 372-386.
- Uchida, K., Tsukamoto, K., Ishida, R., Ishii, S. and Kajihara, T. (1990a). Effects of parental origin on jumping and spacing behaviours of juvenile Ayu *Plecoglossus altivelis* with special reference to their upstream migration. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1401-1405.
- Uchida, K., Tsukamoto, K. and Kajihara, T. (1990b). Effects of environmental factors on jumping behaviour of the juvenile Ayu *Plecoglossus altivelis* with special reference to their upstream migration. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1393-1399.
- 矢持 進 (2012). 都市河川河口・下流域における天然アユの遡上・産卵・孵化復活に関する研究. 河川整備基金助成事業 (平成24年度報告書), 1-26.
- 大和川水環境協議会 (2006). Cプロジェクト計画2006 (水環境編), 1-27.
- 淀川環境委員会 (2013). 平成25年度淀川環境調査関連結果 (速報報告), 1-4.
- 吉川勝秀 (2005). 河川流域環境学. 技報堂出版, 東京, 1-266.