

養魚用飼料有害物質等残留防止 緊急対策調査*

檜 山 晃 晴

目 的

有害物質を各種の濃度で添加した飼料を用いてアユを飼育し、配合飼料に残留する有害物質が養殖生産に与える影響を検討した。

材料と方法

(1) 試験対象, 飼育条件等

試験対象有害物質 重金属である鉛を試験対象有害物質とした。

飼育期間 平成13年7月13日から8月19日まで(38日間) 予備飼育を行い、平成13年8月20日から11月12日まで(12週間) 本試験を実施した。

試験区 飼料中の鉛含有量別に高濃度区(37.5ppm)、中濃度区(7.5ppm)、低濃度区(1.5ppm)、対照区(0ppm)を設定した。また、本試験開始時(予備飼育終了時)の魚体組成を把握するために予備区を設けた。

供試魚 当所で育成中であった海産アユを選別し、平均体重約28gの群を1区あたり7kg(約250尾)ずつ用いた。

給餌方法 直下式の自動給餌器(ヤマハ発動機株式会社, YDF-160SO)を用い、1日に4~5回給餌を行った。1日の給餌量は、残餌が生じないように、内水面養殖管理指針日間給餌率表における値のおよそ6割程度を目処にした。

高濃度区では8週間有害物質含有飼料を投与し、その後4週間対照区飼料で飼育した。中・低濃度区では試験終了(12週間)まで有害物質含有飼料を投与した。

飼育水槽 屋外コンクリート池(5×2×0.4m; 約4t)を用いた。

飼育水 河川伏流水を複数のポンプで汲み上げ飼育水に用いた。

その他 成熟を抑制するため、16時から24時までの間電照処理を施した。

(2) 試験飼料の作成方法

高濃度区飼料(鉛37.5ppm含有) 1,000ppm硝酸鉛標準溶液(関東化学株式会社, 鉛標準液pb1000) 52.5gを100mlビーカーに分取し、蒸留水を添加して98gの鉛溶液とした。鉛溶液と養魚用EP飼料(大洋飼料株式会社, 鮎育成用EP-3) 1,260gを13lポリエチレン製バケツに取り、素手(グローブ使用)でよく攪拌して均一化した。1時間放置した後、オイル(理研ビタミン株式会社, 理研フィードオイルΩ) 42gを添加してコーティングし、37.5ppm鉛添加飼料1.4kgを作成した。

*平成13年度持続的養殖推進対策フォローアップ委託事業(水産庁委託事業)費による。

中濃度区飼料（鉛7.5ppm含有） 1,000ppm硝酸鉛標準溶液10.5 gを100mlビーカーに分取し、蒸留水を添加して98 gの鉛溶液とした。鉛溶液と養魚用E P飼料1,260 gを13 l ポリエチレン製バケツに取り、素手でよく攪拌して均一化した。1時間放置した後、オイル42 gを添加してコーティングし、7.5ppm鉛添加飼料1.4kgを作成した。

低濃度区飼料（鉛1.5ppm含有） 1,000ppm硝酸鉛標準溶液10mlを100mlメスフラスコに取り、蒸留水で定容とした（100ppm希釈液）。100ppm希釈液21 gを100mlビーカーに分取し、蒸留水を添加して98 gの鉛溶液とした。鉛溶液と養魚用E P飼料1,260 gを13 l ポリエチレン製バケツに取り、素手でよく攪拌して均一化した。1時間放置した後、オイル42 gを添加してコーティングし、1.5ppm鉛添加飼料1.4kgを作成した。

対照区飼料 蒸留水98 gと養魚用E P飼料1,260 gを13 l ポリエチレン製バケツに取り、素手でよく攪拌して均一化した。1時間放置した後、オイル42 gを添加してコーティングし、0 ppm鉛添加飼料1.4kgを作成した。

（3）魚体測定と検体採取等

1）魚体測定

0, 3, 6, 8, 10, 12週目に魚体の精密測定を行った。測定項目は、標準体長、体重、肝臓重量、生殖腺重量であった。また、4週目に間引きを行い、標準体長と体重を測定した。0週時の測定は、予備区の魚（268尾）を全て取上げて全長と体重の測定を行い、うち25尾について精密測定を行った。

2）検体採取

筋肉 高濃度区では3, 6, 8, 10, 12週時、中・低濃度区では3, 6, 8, 12週時、対照区で12週時、予備区で0週時に検体の採取を行った。魚体から頭部および内臓を取り除いたものを筋肉組織の検体とし、精密測定を行った全ての個体分を併せて1検体とした（1区あたり20～25尾分）。

肝臓 高濃度区では3, 6, 8, 10, 12週時、中・低濃度区では3, 6, 8, 12週時、対照区で12週時、予備区で0週時に検体の採取を行った。摘出した肝臓組織の全てを検体とし、精密測定を行った全ての個体分を併せて1検体とした（1区あたり20～25尾分）。

卵巣 高濃度区で8, 10, 12週時に検体の採取を行った。摘出した卵巣組織の全てを検体とし、精密測定を行った全ての雌個体分を併せて1検体とした（1回あたり8～13尾分）。

飼料 高濃度区では0, 8週時、中・低濃度区では0, 12週時、対照区で0週時に試験飼料の検体採取を行った。また、0週時に鉛を添加する前の養魚飼料の検体採取を行った。

飼育水及び排水 高濃度区で2週間毎に飼育水および排水の検体採取を行った。飼育水は池の中央部で採取し、フィルターペーパー（TOYO, ADVANTEC-No 1, 240φ）を用いて懸濁物質を取り除いた。

3）鉛含有量の分析

財団法人日本冷凍食品検査協会が行った。

結 果

(1) 減耗

表1は、本試験における飼育結果の概略を整理したものである。飼育期間中のへい死減耗はわずかに6尾であり、その内訳は低濃度区で3尾（本試験を開始して4、29、38日目）、中濃度区で2尾（47、69日目）、高濃度区で1尾（71日目）であった。対照区では、へい死による減耗はみられなかった。へい死尾数そのものが少ないこと、また、添加濃度の低い実験区で早くから減耗していることから、鉛の摂取とへい死との関係は密接でないと考えられる。

なお、予備飼育中（約28gから50gまで育成）には、全ての試験区においてへい死はみられなかった。

(2) 成長

図1は、各区の平均体重の推移を示したものである。本年度事業では、本試験開始が大幅に遅れたために予備飼育期間が長引き、本試験開始時には体格差が生じてしまった（図2）。そのため、0週時の各区の平均体重には、予備区の全数測定により求めた値（50.4g）を代用した。

3週経過時の平均体重には目立った差が認められ、対照区、高濃度区、中濃度区、低濃度区の順に大きかった。4週経過時には、対照区から中濃度区までの差が縮まり、低濃度区の平均体重のみが大きく下回った。6週経過時には、対照区と中・低濃度区の差が小さくなり、高濃度区のみがこれらを下回った。8週経過時には、対照区のみが他を大きく上回ったが、鉛を添加した3区の差はほとんどなかった。10週経過時には、対照区、中濃度区の順に平均体重が大きく、低濃度区と高濃度区でほとんど差がなかった。12週経過時には、対照区、中濃度区、低濃度区、高濃度区の順となった。なお、12週時の平均体重は全数測定により求めたが、3～10週時のものは20～30尾規模の抽出測定により求めた値である。

各区の成長にみられるこれらの特徴的な結果は、単に有害物質による影響を反映したものとは限らなかった。まず、試験開始時の収容尾数は、対照区が247尾、低濃度区が254尾、中濃度区が250尾、高濃度区と予備区がともに268尾で、実際には高濃度区とその他の区画で差が存在していた。そのため、各区の総給餌量はいずれも15kgであったが（表1）、これを1尾あたりに換算すると、高濃度区の給餌実績が劣っていたことがわかる（図3）。対照区、低濃度区、中濃度区の1尾あたり総給餌量は、それぞれ81.7、81.3、81.0gとほぼ等しかったが、高濃度区のみ73.1gと目立って他を下回った。12週終了時における対照区と高濃度区の平均体重の差（10g）は、この点を踏まえて評価しなければならない。

一方、0～3週までは、給餌器のトレイ穴（数、径）により日間給餌量を計算・調整していた。しかし、実際には低濃度区の給餌器に投下量の低下が生じていた。予備飼育時には、全ての給餌器において定格の投下能力が確認できていたが、試験飼料のコーティングに用いたフィードオイルの粘性によってトレイ穴の目詰まりが徐々に生じたものと考えられる。4週目以後は、定量落としきりで給餌し、8週時までに各区の延べ給餌量を等しくした。結果として、試験初期において低濃度区の成長不良につながった可能性がある。

表1 飼育結果の概略

試 験 区 有 害 物 質 添 加 濃 度	対照区	低濃度区	中濃度区	高濃度区	
	0 ppm	1.5ppm	7.5ppm	37.5ppm	
総尾数	0週	247	254	250	268
	3週	247	253	250	268
	(4週	227	233	230	248)
	6週	197	201	200	218
	8週	177	181	179	198
	10週	157	160	158	178
	12週	137	140	138	157
総重量 (g)	0週	12,449	12,802	12,600	13,507
	3週	16,104	13,637	14,100	16,160
	(4週	15,027	13,258	14,812	16,170)
	6週	14,086	13,769	13,880	13,974
	8週	15,470	13,575	13,640	15,206
	10週	14,491	12,992	13,809	14,596
	12週	14,263.4	13,575.0	13,876.8	14,772.6
平均体重 (g)	0週	50.4	50.4	50.4	50.4
	3週	65.2	53.9	56.4	60.3
	(4週	66.2	56.9	64.4	65.2)
	6週	71.5	68.5	69.4	64.1
	8週	87.4	75.0	76.2	76.8
	10週	92.3	81.2	87.4	82.0
	12週	104.1	97.0	100.6	94.1
へい死尾数	0～3週	0	1	0	0
	3～6週	0	2	0	0
	6～8週	0	0	1	0
	8～10週	0	0	1	0
	10～12週	0	0	0	1
	0～12週	0	3	2	1
給餌量 (g)	0～3週	3,700	2,268	3,003	3,700
	3～6週	3,660	4,932	4,277	3,690
	6～8週	2,540	2,700	2,620	2,510
	8～10週	2,800	2,800	2,800	2,800
	10～12週	2,300	2,300	2,300	2,300
	0～12週	15,000	15,000	15,000	15,000
成長率 (%)	0～3週	29.4	6.9	11.9	19.6
	3～6週	9.7	27.1	23.0	6.3
	6～8週	22.2	9.5	9.8	19.8
	8～10週	5.6	8.3	14.7	6.8
	10～12週	12.8	19.5	15.1	14.8
	0～12週	106.5	92.5	99.6	86.7
餌料効率 (%)	0～3週	98.8	39.1	50.0	71.7
	3～6週	35.6	62.2	64.7	23.5
	6～8週	110.8	43.6	46.6	100.2
	8～10週	27.5	35.4	63.6	33.1
	10～12週	70.3	96.2	79.2	82.6
	0～12週	65.8	57.3	62.0	59.8
給餌率 (%)	0～3週	1.234	0.818	1.071	1.187
	3～6週	1.233	1.827	1.520	1.240
	6～8週	1.290	1.485	1.433	1.286
	8～10週	1.418	1.601	1.538	1.415
	10～12週	1.221	1.317	1.266	1.188
	0～12週	1.259	1.313	1.277	1.204

餌料効率 (%) = 各区間における平均体重の増加 / 1尾あたり日間給餌量の区間積算値 × 100

給餌率 (%) = 1尾あたり日間給餌量の区間平均値 / 区間前後の平均体重の平均 × 100

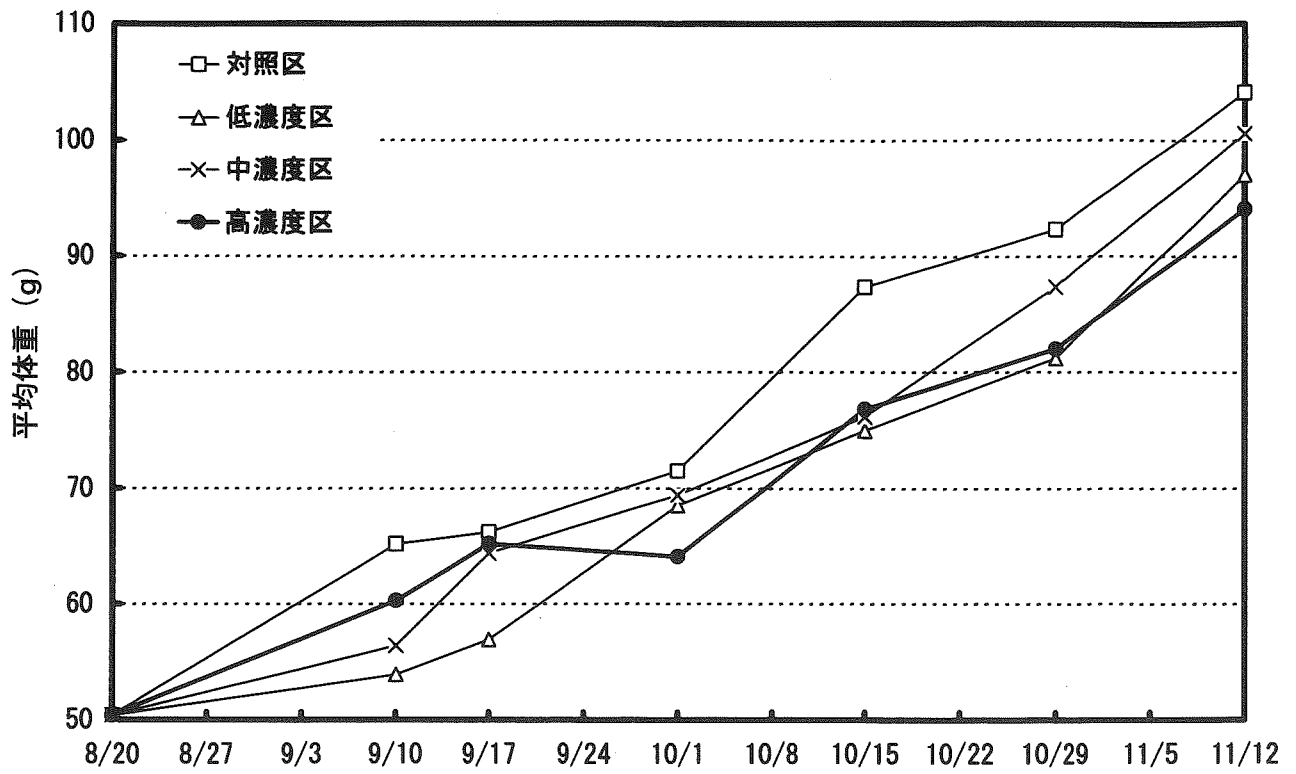


図1 平均体重の推移

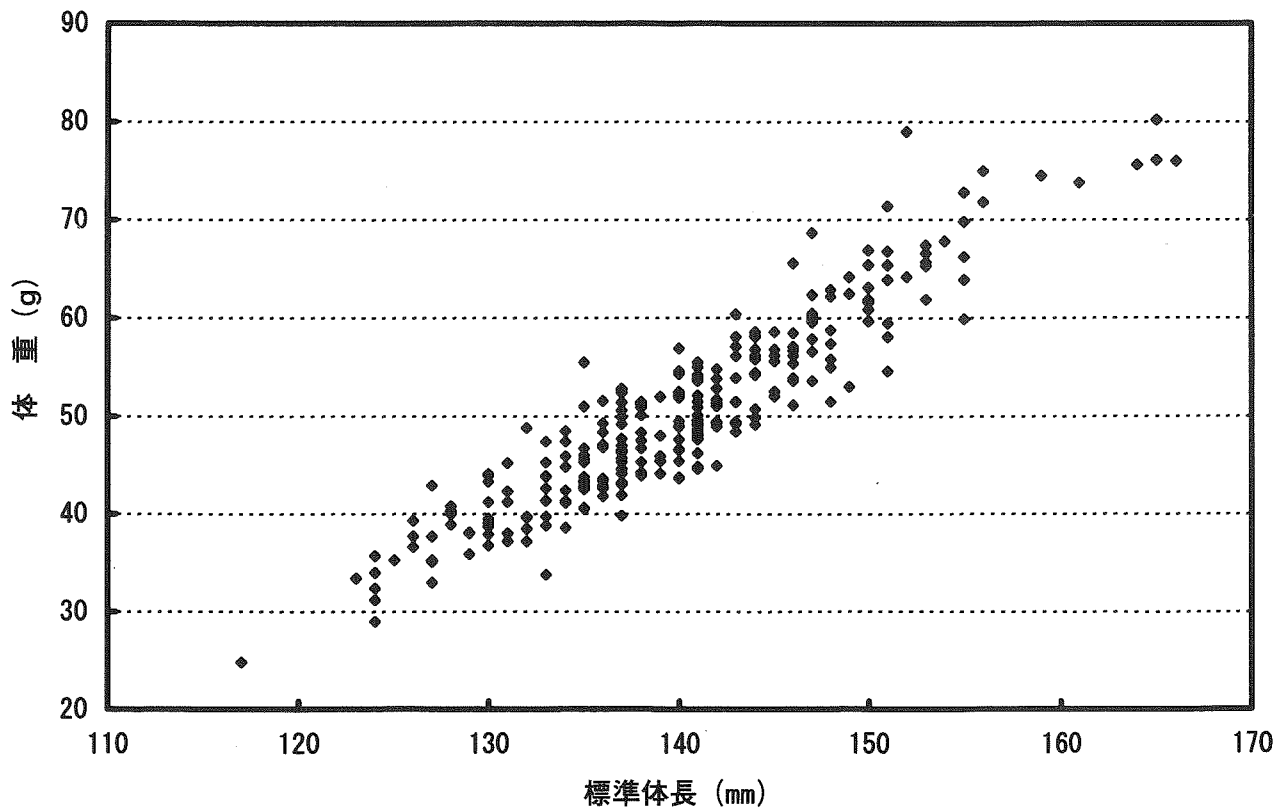


図2 本試験開始時の体格 (0週; 予備区)

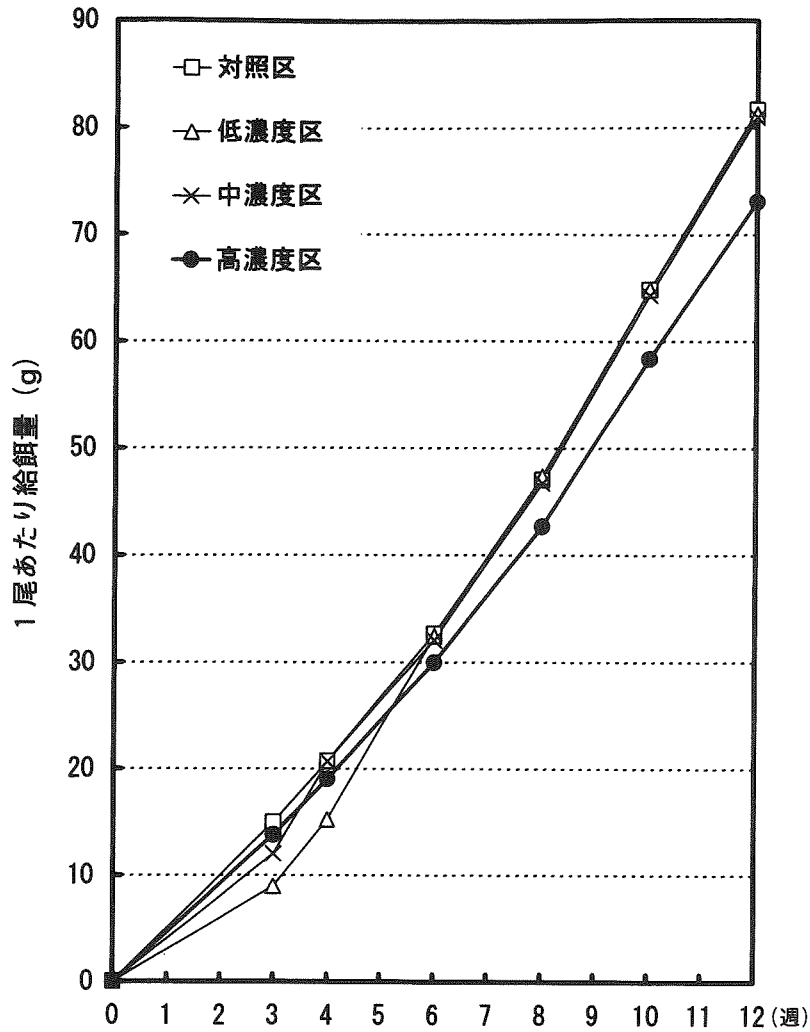


図3 1尾あたり給餌量

(3) 有害物質の残留状況

表2は、(財)日本冷凍食品検査協会による鉛の濃度分析結果を示したものである。養魚用E P飼料には、もともと微量(0.05~0.08ppm)の鉛が含まれていた。試験開始時に作成した各区試験飼料の鉛含有濃度は、対照区が0.06ppm、低濃度区が1.56ppm、中濃度区が7.30ppm、高濃度区が34.10ppmであった。高濃度区飼料の鉛濃度が若干低いものの、各区ではほぼ既定どおりの濃度が得られていた。また、給餌終了時の濃度も、低、中濃度区でそれぞれ1.61ppm、6.99ppm(12週)、高濃度区で38.40ppm(8週)とほぼ設定どおりであった。安全確保のため2週間おきに水質の分析を行ったが、高濃度区飼育水並びに施設出口の排水からは鉛が検出されなかった(検出限界0.005ppm未満であった)。筋肉および卵巣における鉛残留濃度は、全ての検体について検出限界(0.01ppm)未満であった。肝臓組織については、実験区から採取した全ての検体で鉛が検出された。しかし、その濃度は0.02~0.05ppmと低く、本県が条例で定める有害物質に係る排水基準(5ppm)を大きく下回った。また、添加濃度に対応する残留濃度の差(実験区間の残留濃度の差)や、投与期間に相関した蓄積の傾向(検体採取時期による濃度差)は明確に認められなかった。

表2 鉛の濃度分析結果

単位：ppm

項目	採取日	0週 8/20	2週 9/3	3週 9/10	4週 9/17	6週 10/1	8週 10/15	10週 10/29	12週 11/12
養魚飼料									
ロットNo. 1		0.08							
ロットNo. 2		0.08							
ロットNo. 3		0.05							
試験飼料									
対照区		0.06							
低濃度区		1.56							1.61
中濃度区		7.30							6.99
高濃度区		34.10					38.40		
飼育水 (高濃度区)		<0.005		<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
施設出口の排水		<0.005		<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
筋肉									
対照区		<0.01							<0.01
低濃度区			<0.01		<0.01	<0.01	<0.01		<0.01
中濃度区			<0.01		<0.01	<0.01	<0.01		<0.01
高濃度区			<0.01		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
肝臓									
対照区		<0.01							<0.01
低濃度区			0.03		0.02	0.02	0.02		0.03
中濃度区			0.04		0.02	0.02	0.02		0.03
高濃度区			0.04		0.02	0.03	0.03	0.03	0.05
卵巣 (高濃度区)							<0.01	<0.01	<0.01

検出限界：飼料と魚体組織は0.01ppm、水質は0.005ppm。

(4) その他

図4は、本試験実施中の飼育水温を示したものである。期間中、水温は17.2～19.0℃の間で変動し、前半6週間で低く後半6週間で比較的に高かった。この水温の変動は、主に施設内の複数の稼動ポンプの汲み上げ位置によって左右されたものである。アユ養殖では、15～25℃が適水温とされる。その点、今回の試験では全般的に飼育水温が低めであった。

一方、飼育期間中、餌食い等の観察も頻繁に行ったが、各区とも旺盛な食欲を示し、残餌はほとんど出なかった。また、16～24時まで電照を行ったため、成熟した個体はほとんど出現しなかった。本試験において精密測定を行った全ての個体のG S Iの分布を図5に示す。生殖腺の発達した個体は雌の1尾のみで(10/1, 中濃度区, GSI=25.15), その他はG S Iが11未満であった。

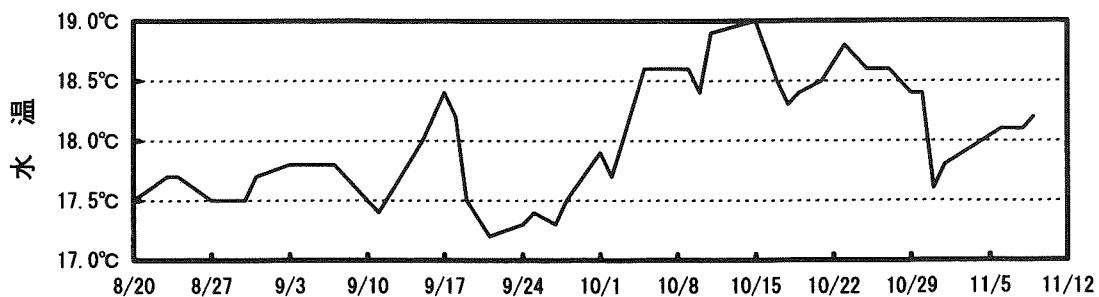


図4 飼育水温

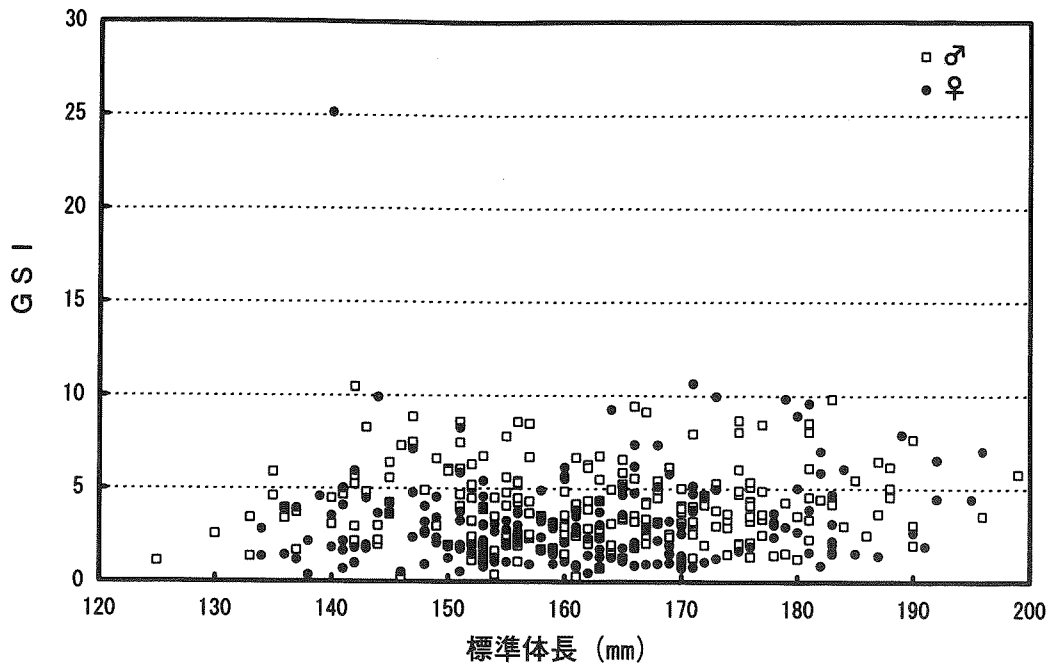


図5 生殖腺熟度指数の分布
($GSI = \text{生殖腺量} / \text{体重} \times 100$)

考 察

本試験終了時の魚体の品質（体型や色艶など）は、4つの試験区で大きな差は認められなかった。また、体重のばらつきについても統計的に有意な差は認められなかった（表3，図6）。表4は、12週終了時における各試験区間の母平均（体重）の差に関する検定結果である。危険率10%水準では各試験区の平均値間に有意差が認められるが、5%水準では低濃度区と高濃度区の平均値に差がない。よって、鉛を添加した飼料を用いてアユを飼育すると平均体重が小さくなる傾向が窺えるが、鉛の摂取量と成長差には簡潔な対応が認められない。

表5は、3，4，6，8，10，12週時の平均体重に関して試験区間の適合度を検定した結果である。これによると、各区の成長（平均体重の推移）に関しては顕著な差がないと考えられる。ただし、成長様式が適合する確率は、対照区と各実験区（低・中・高濃度区）の間で比較的に低く（15～68%）、鉛を添加した三つの実験区相互の間では非常に高いものであった（79～92%）。つまり、肝臓組織における鉛残留濃度の分析結果と同様に、対照区と実験区に分かれる傾向が窺える。この計算結果に大きく影響したのは、10月の高水温推移を受けた対照区の高成長であるとみられる。この時期までには、高濃度区を除く各区の1尾あたり給餌量はほぼ等しくなっており、対照区のみが好条件を活かして急成長できたとも解釈できる。しかし、データ数が1区あたり20尾と少ないため、断定することはできない。ただ、こうした推論が正しいとすると、鉛の摂取による成長阻害は、1.5ppm区でも7.5ppm区と変わることなく効いていたことになる。

総括して、今回の濃度設定（1.5～37.5ppm）と摂取時期（アユ養殖では育成の末期）、飼育水温

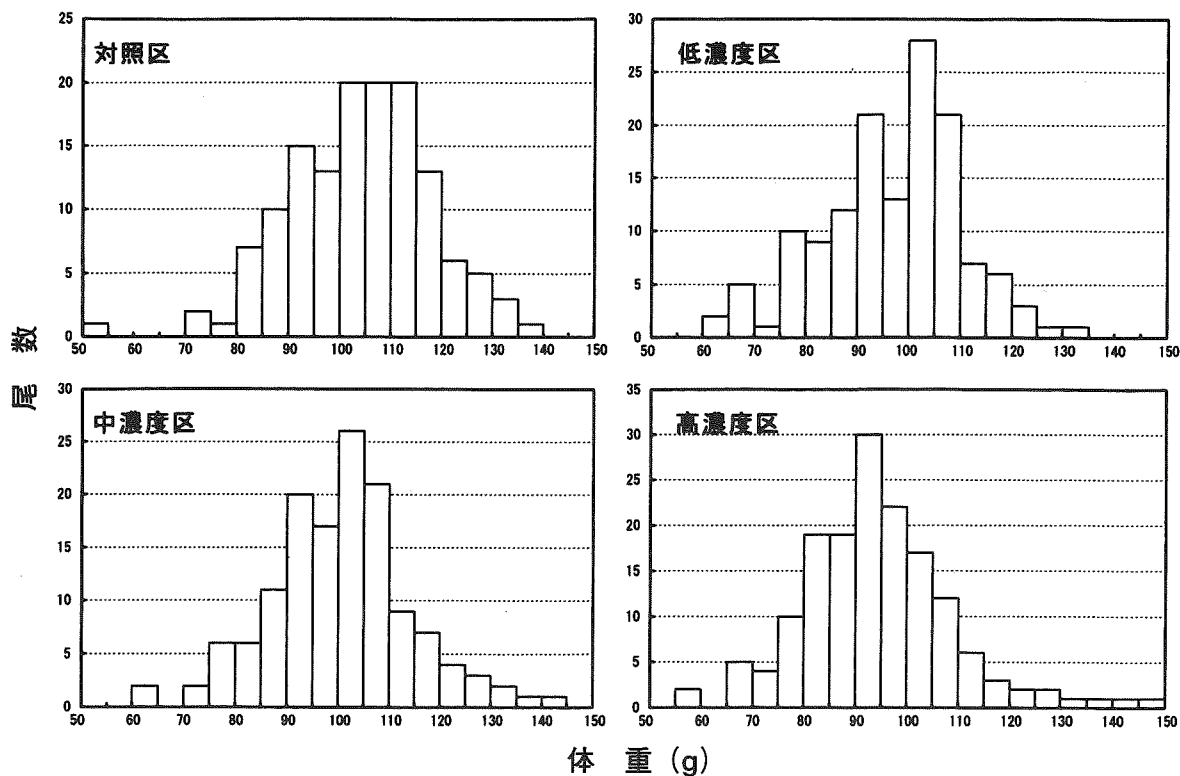


図6 アユの体重組成 (12週)

においては、飼料からの鉛の摂取が養殖生産そのものに与える影響(減耗, 成長阻害)は小さいと推察される。ただし、小さいながら影響そのものは添加濃度を問わず存在すると考えられ、対照区にみられなかった魚体内での残留も確認された。また、最近年、実際のアユ養殖現場では 100g サイズまで養成することは稀有であり、よほど大きくても 70g サイズ以下の生産が主流であると聞かれる。この点、今回の試験期間設定が遅すぎたわけであり、初期の育成段階で鉛が摂取された場合には、成長阻害の面でより明確な結果が得られることも予想される。

表3 F検定による等分散性の検定 (体重; 12週)

	標本数	分散	P (F<= f) 両側		
			対照区	低濃度区	中濃度区
対照区	137	195.5696			
低濃度区	140	186.9469	0.3957		
中濃度区	138	195.3398	0.4972	0.3982	
高濃度区	157	218.0809	0.2576	0.1769	0.2548

表4 t検定による平均値の差の検定 (体重; 12週)

	標本数	平均	P (T<= t) 両側		
			対照区	低濃度区	中濃度区
対照区	137	104.1124			
低濃度区	140	96.9643	0.0000		
中濃度区	138	100.5565	0.0359	0.0312	
高濃度区	157	94.0930	0.0000	0.0843	0.0001

表5 χ^2 検定による適合度検定 (平均体重の推移)

観測値 / 理論値	P ($\chi^2 <= \chi^2$) 片側			
	対照区	低濃度区	中濃度区	高濃度区
対照区	1.0000	0.2229	0.6828	0.4739
低濃度区	0.1504	1.0000	0.8835	0.7928
中濃度区	0.6189	0.9032	1.0000	0.9196
高濃度区	0.4053	0.8241	0.9120	1.0000