

ミジンコを用いた生態系リスク調査

菊地幹夫 若林明子

要 旨

河川水中の化学物質による水生生物への影響を明らかにするために、東京及びその近郊の12河川16地点の河川水を、前処理せずに直接に、ミジンコの遊泳阻害試験を用いて試験した。その結果、6河川でミジンコに遊泳阻害が観察され、地域的には主にその流域に農耕地を有する河川の水で遊泳阻害が見られた。その原因物質を化学分析で検索したところ、フェニトロチオン、ダイアジノン、ジクロルボス等の有機りん系殺虫剤が検出され、また検出濃度と室内実験で求めた遊泳阻害濃度との比較から、遊泳阻害の原因物質が主にこれらの農薬であることが明らかになった。

このように広範囲の河川の水質がミジンコの生息に有害であり、また、この有害性は農薬を多用する季節には継続することから、これらの河川で農薬は直接的には甲殻類に、そして間接的には水中の生物群集に高いリスクを与えていることが明らかになった。

Monitoring the Response of Chemicals in River Water by *Daphnia magna*

Mikio Kikuchi and Meiko Wakabayashi

Summary

Biomonitoring tests were used to assure that rivers and streams contain water of sufficient quality to support aquatic life. *Daphnia magna* were exposed to the water samples collected from 16 sites of 12 rivers and streams in Tokyo and its neighborhood, and the organism's acute response was monitored. This species was chosen because of high sensitivity, ease of culture, and the amount of historical toxicity data that has been generated. The mobility of the organism was acutely inhibited at six rivers and streams tested. Discharge to these sites was from paddy field, and which was a significant proportion of the total flow of the streams and rivers. To find out what was causing the toxicity, the chemical analysis was undertaken for these water samples. Gas chromatography - mass spectroscopy of the samples revealed the presence of some pesticides in the water samples. The concentrations of organophosphate insecticides such as fenitrothion and diazinon in the water samples correlated well with the toxicity measurements of each sample. Determination of the toxicity of these insecticides to *Daphnia magna* revealed median effect concentrations (EC50) of below 1 $\mu\text{g}/\ell$. *Daphnia magna* is crustacean and represents one of three trophic levels that constitute a typical aquatic food chain. The significance of detecting these insecticides at acutely toxic concentrations to *Daphnia magna* in the streams and river waters indicates that they cause adverse effect on some aquatic lives such as crustacean and benthic insect, hence the entire aquatic community would have a negative impact due to sources of insecticide pollution.

1 はじめに

近年になって、河川水はいろいろな化学物質で汚染されていることがわかってきた。このため水質環境基準が大幅に改定されるとともに要監視項目が設定されるなどして、河川の水質監視が強化されてきた。また、これらの化学物質は水生態系にも悪影響を与えていっているのではないかとの懸念が生じてきた。国立環境研究所の研究によると、霞ヶ浦水系の河川水や小貝川では、春から夏にかけて殺虫剤によりヌカエビが死亡し、また除草剤により緑藻の生長が阻害されており¹⁻³⁾、一部の農村地帯の河川では被害が顕在化していることがわかってきた。

河川水中の化学物質による水生生物への毒性を直接的・具体的に明らかにし、汚染の現状を評価するためには、バイオアッセイ（生物試験）が最も適切である。甲殻類の一つであるミジンコを用いる試験方法は簡便であり、日本工業規格で規格化され(JIS K 0229)、試験方法としての完成度も高い。また、すでに多くの使用実績があり、化学物質のミジンコに対する毒性データもそろっている。これらのことから、著者らはミジンコを用いて東京及びその近郊の河川水を前処理せずに直接にバイオアッセイし、これらの河川水が甲殻類に急性的な毒性を示す水質かどうかを検討したので報告する。

2 なぜ生態毒性試験にミジンコを用いるのか

環境に及ぼす化学物質の影響を評価するための国際的に認められた方法としてはOECDテストガイドラインがある。その中の生態毒性試験の基本的考え方は、生態系を構成する代表的な生物を選択し、それらに対する化学物質の影響を、生死、生長、繁殖等の指標で評価しようとするものである。水生態系では、一次生産者の藻類、一次消費者のミジンコ、高次消費者の魚類が試験に用いられている。ミジンコへの毒性は甲殻類への毒性の指標となると考えられている。

3 実 験

(1) 河川水に対するミジンコの遊泳阻害試験

ア 調査河川

採水地点を図1に示した。1994年6月にこれらの河川で採水し、また中川（埼玉県吉川市）で1994年4月から1995年1月まで約1年間にわたって採水した。この河川水を250mlのポリビンに入れて-18°Cで凍結保存し、試験の直前に解凍して検水とした。

イ ミジンコ

試験にはオオミジンコ (*Daphnia magna* クローン5) を用いた。ミジンコは脱塩素水道水（硬度=70 mg/

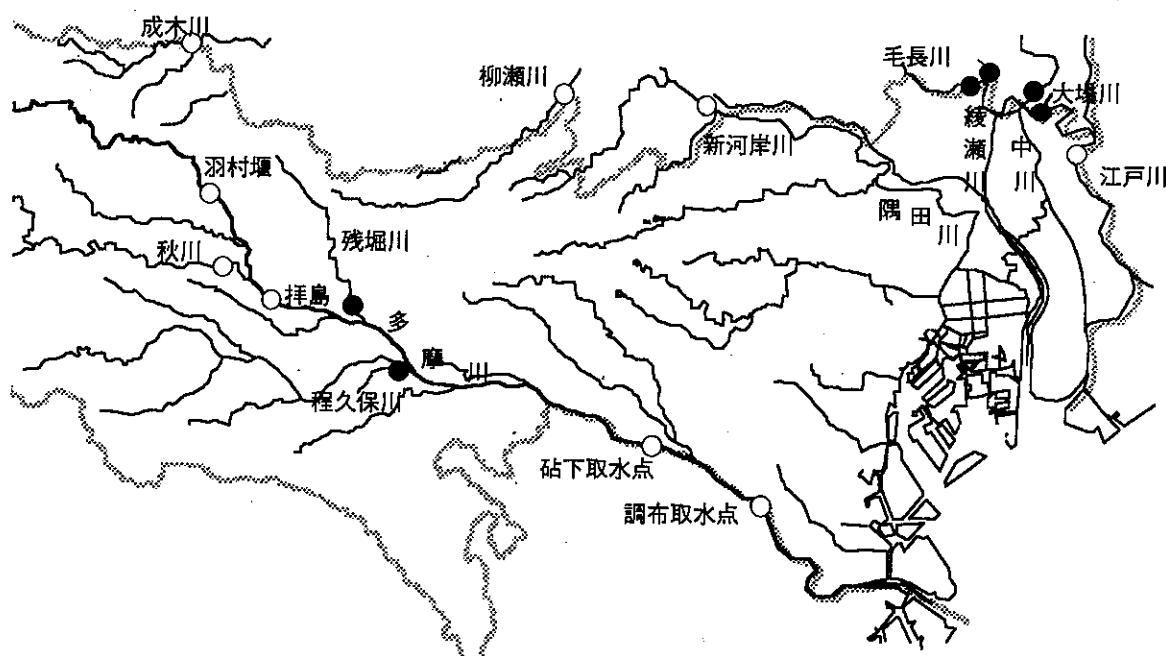


図1 河川の調査地点とミジンコへの試験結果

●：遊泳阻害 ○：遊泳可

ℓ 、pH=6.9) 又は市販のミネラルウォーター(菊水:秩父わか清水(硬度=70mg/ ℓ 、pH=7.6、塩化物イオン=4mg/ ℓ)を用いて実験室で培養した *Selenastrum capricornutum* 又は購入した *Chlorella* sp. (クロレラ工業) を餌として水温20~21°Cで飼育した。

ウ 遊泳阻害試験

JIS K 0229「化学物質などによるミジンコ類の遊泳阻害試験方法」に準拠した。河川水約20mlの中に産出後24時間以内の幼体5個体を入れたものを4連つづって試験し、48時間後におけるミジンコの遊泳阻害状況を観察した。ミジンコが泳ぐことができない、あるいは死んだ状態を遊泳阻害とし、20頭中何頭が遊泳阻害を受けたのかの比率(%)で遊泳阻害の程度を示した。試験条件は、pH 7~8、水温20~21°C、照度1000~2000ルックス(16時間明-8時間暗)、溶存酸素7mg/ ℓ 以上とした。また試験での対照水には上記のミネラルウォーターを用いた。この試験条件はミジンコにとって良好であり、5回の対照試験で遊泳阻害は1検水の1個体のみに認められただけである。

(2) 河川水中の要監視項目の農薬の分析

化学分析用にガラスびんに採水した河川水は、冷蔵して実験室に搬入した後、前処理してガスクロマトグラフィー/質量分析法(GC/MS)又は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。

(3) 農薬に対するミジンコの遊泳阻害試験

ア 試薬

農薬としては製剤を用い、濃度はすべて原体に換算し

て示した。

イ 試験水

上記のミネラルウォーターを希釀水として用い、これに一定量の農薬を溶かして試験水とした。

ウ 遊泳阻害試験方法

河川水についてと同様の条件で、試験水を数段階の濃度に調製して試験した。48時間暴露後における半数遊泳阻害濃度(以下「48h-EC50」と言う。)は、片対数グラフに濃度と遊泳阻害率をプロットし、50%の前後の点を結んで算出した。

4 結果と考察

(1) 河川水でのミジンコの遊泳阻害

ア 地域的な特徴

図1に示した都内の15地点の河川水について試験した結果は次のようになった。

①遊泳が正常:江戸川、多摩川(羽村堰、拝島原水補給点、砧下取水点、調布取水点)、秋川、新河岸川、成木川、柳瀬川

②遊泳がほぼ全頭で阻害された:中川、綾瀬川、大場川、毛長川、程久保川、残堀川

この試験から、いくつかの河川水にはミジンコに遊泳阻害を示す物質が含まれていることがわかった。地域的にはその流域に田畠を有する河川の水で遊泳阻害が多く見られた。

イ 河川水での遊泳阻害率の年間変動

中川の定点(吉川市)における1994年4月から1995年

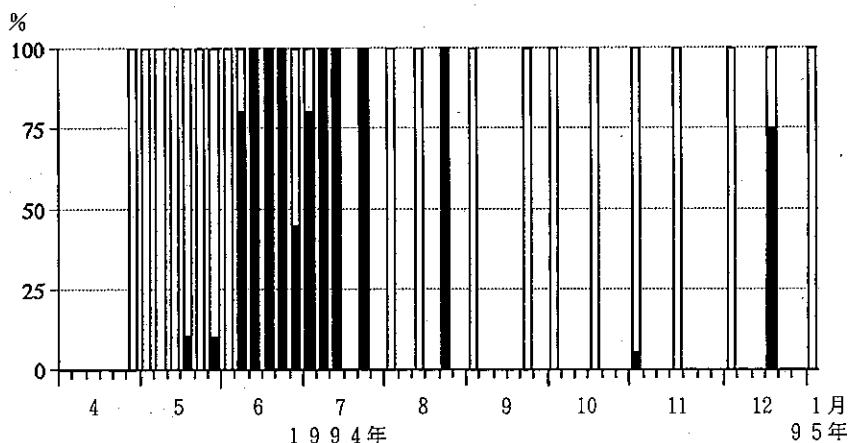


図2 中川(吉川市)の河川水の遊泳阻害状況

■:遊泳阻害 □:遊泳可

1月までの約1年間の変動を図2に示した。全体としては6~7月に遊泳が阻害されたが、他の時期にも時々遊泳阻害がみられた。例えば8月の大河による増水の直後には阻害を受けた。定点から約2km下流の八条橋での一般的な水質指標の生物化学的酸素要求量(BOD)の年度平均値(1994年度)はおよそ5mg/lであるが、中川は水田排水を集めて流れることから、BODは夏に低く冬に高い値となる。したがってミジンコの遊泳阻害とBOD濃度の増大とは関係はなかった。

(2) 原因物質の探索

河川水中でミジンコが遊泳阻害をうける状況を観察すると、遊泳阻害に先立って激しい興奮状態がみられた。この挙動は有機りん系殺虫剤等に特徴的な反応であり、またミジンコは有機りん系殺虫剤に対する感受性が非常に高いことが知られている。そこで河川中の農薬濃度を化学分析し、結果を表1に示した。あわせて文献からミジンコの24時間半数致死濃度(以下「24h-LC50」と言う。)を引用し、個々の農薬について〔農薬濃度/24h-LC50〕をもとめ、その総和値を計算して表1に示した。24h-LC50が入手できないプロピザミドではミジンコ類の3h-LC50で代用した。化学分析の結果と比較すると、農薬が検出される地点の多くではミジンコに遊泳阻害がみられること、しかも総和値が0.1をこえると遊

泳阻害をうけることが分かる。しかし中にはこれらの農薬が検出されないにもかかわらず、ミジンコに遊泳阻害がみられた河川(残堀川)もある。

(3) 農薬の48h-EC50

そこで致死濃度の低い有機りん系殺虫剤の3農薬(ダイアジノン、フェニトロチオン、シクロルボス)について48h-EC50を求めたところ、これらの農薬の48h-EC50はいづれも1 μ g/l以下となり、24h-LC50値のおよそ1/10の値であることがわかった。遊泳阻害が見られた河川(残堀川を除く。)では、河川水から検出された濃度はこの48h-EC50値付近あるいはそれ以上であり、また遊泳阻害が見られない河川で検出された濃度はこの48h-EC50値よりもずっと小さかった。このことは河川での遊泳阻害の原因物質がこれらの有機りん系殺虫剤であることを示している。

関西の淀川水系でも河川水を濃縮してミジンコで試験したところ、遊泳阻害がみられたとの報告⁴⁾があるが、原因物質の特定には至っていない。霞ヶ浦水系の河川水や小貝川では、殺虫剤によることがわかっている^{1,3)}。

(4) 生態系へのリスク

河川水にミジンコを入れてその挙動を観察することにより、河川水の有害性を直接、簡便かつ安価に計測できた。大場川や毛長川等の小河川ばかりではなく、流量の

表1 都内河川15地点における要監視項目の農薬濃度とミジンコの遊泳阻害との比較

(汚染濃度の単位: mg/l)

地 点	オキシ ン鋼	DDVP	フェノ カルブ	TPN	IBP	プロピ ザミド	ダイア ジノン	MEP	イソプロ チオラン	イソキサ チオン	CNP	ミジンコ 遊泳状況	毒性総 和値	検出農薬 数
江戸川新葛飾橋	ND	ND	0.0004	ND	0.0001	ND	0.0002	ND	0.0001	ND	ND	○	0.04	4
多摩川羽村堰	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	○	0	0
多摩川拝島原水補給点	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	○	0	0
多摩川砧下取水点	ND	ND	0.0001	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	○	0	1
多摩川調布取水点	ND	ND	0.0001	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	○	0	1
秋川東秋川橋	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	○	0	0
成木川両郡橋	ND	ND	0.0004	ND	ND	ND	ND	ND	0.0001	ND	ND	○	0	2
中川潮止橋	ND	0.0001	0.0004	ND	0.0014	ND	0.0005	0.0001	0.0008	ND	ND	×	0.15	6
大場川葛三橋	ND	0.0005	0.0016	ND	0.0009	ND	0.0005	0.0027	0.0009	ND	ND	×	1.06	6
綾瀬川桑袋大橋	ND	0.0001	0.0013	ND	0.0003	ND	0.0021	0.0001	0.0005	ND	ND	×	0.35	6
毛長川鷺宮橋	ND	0.0003	0.0004	ND	ND	ND	0.0027	0.0007	ND	ND	ND	×	0.62	4
新河岸川芝宮橋	ND	ND	0.001	ND	0.0009	ND	0.0007	0.0001	ND	ND	ND	○	0.15	4
柳瀬川清柳橋	ND	ND	0.0001	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	○	0	1
程久保川玉川橋	ND	0.0007	ND	ND	ND	ND	ND	0.0007	ND	ND	ND	×	0.41	2
残堀川立川橋	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	×	0	0
検出限界	0.004	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001			
指針値	0.04	0.01	0.02	0.04	0.008	0.008	0.005	0.003	0.04	0.008	0.0001			
ミジンコ24h-LC50	0.45	0.0035	0.033	0.075	0.085	>40	0.0085	0.0034	3.3	0.00073	3.8			

注) 槍号は次のとおりである。

DDVP(シクロルボス), TPN(クロロタロニル), IBP(イプロベンホス), MEP(フェニトロチオン), CNP(クロルニトロフェン)

ミジンコ遊泳状況: 遊泳可○、遊泳阻害×

毒性総和値: 各農薬についての〔農薬濃度/24h-LC50〕の総和値

大きな中川（低水流量：約22m³/sec）の河川水でもミジンコに遊泳阻害が起きた。ミジンコは甲殻類への影響の指標生物と考えられることから、これらの河川水中の有機りん系殺虫剤の濃度は農薬を使用する季節には甲殻類に非常に有害なレベルにあることがわかる。甲殻類への慢性毒性は当然にもっと低い濃度で現れることから、これらの河川では有機りん系殺虫剤による汚染を早急に改善する必要がある。

これらの調査は東京都環境保全局水質保全部水質監視課と共同で実施したものであり、要監視項目の農薬の濃度調査⁵⁾は水質監視課が帝人エコ・サイエンスに委託して行った。

引用文献

- 1) 島山成久ら：霞ヶ浦水系河川のヌカエビ (*Paratya compressa improvisa*) 生物試験による農薬毒性の季節変動，水質汚濁研究，14，pp.460-468(1991).
- 2) 島山成久ら：河川の藻類生産に及ぼす除草剤の影響評価，*Jpn. J. Limnol.*, 53, pp.327-340 (1992).
- 3) 内藤正明ら：水環境における化学物質の長期暴露による相乗的生態系影響に関する研究(最終年度)，国立環境研究所特別研究年報，平成5年度，pp.3-11(1994).
- 4) M.Hosokawa, et al. : Acute toxic effect of River Yodo water (Japan) on *Daphnia magna*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 55, pp.419-425 (1995).
- 5) 東京都環境保全局：平成6年度公共用水域の水質測定結果（資料編），p.582 (1995).