

ミジンコを用いたバイオアッセイによる農薬汚染スクリーニング調査

菊 地 幹 夫 佐々木 裕 子 若 林 明 子
渡 辺 のぶ子* 大田黒 幹 夫*

(*水質保全部)

要 旨

ミジンコはppb以下の濃度の有機りん系殺虫剤により遊泳を阻害されることを利用して、河川水がこれらの農薬に汚染されているかどうかを明らかにすることを試みた。ミジンコを用いるバイオアッセイでの調査結果と化学分析による結果とはいくつかの例外はあるがよく一致し、バイオアッセイが簡便・迅速で安価なスクリーニング調査方法であることが明らかになった。

Screening of Pesticide Contamination Using Bioassay by *Daphnia magna*

Mikio Kikuchi, Yuko Sasaki, Meiko Wakabayashi

Nobuko Watanabe* and Mikio Ohtaguro*

*Water Quality Protection Division

Summary

This research was undertaken to detect the pesticide contamination of river water using the immobilization effect to *Daphnia magna* by ppb level of organophosphorous pesticides. As a result, a good relationship was observed between the results of bioassay and those of chemical analysis except for a few cases. It is therefore concluded that the bioassay could be used as a simple and low cost preliminary screening method for pesticide contamination.

1 はじめに

水田等で使われた農薬は、降雨あるいは水管理の不適切等を原因として河川に流出して水質を汚染する。水質が汚染されると人の健康や生態系に被害が出る恐れがあるため、河川の水質は定期的にモニタリングされてきている。しかし、現在一般的に使われている固相抽出-ガスクロマトグラフィー/質量分析法(GC/MS)では、①分析に多くの手間と多額の費用がかかる、②分析対象農薬をあらかじめ設定して分析するため、分析対象外の子期せぬ農薬による汚染を見逃す恐れがある、などの問題点がある。このため、安価で簡便な方法で、農薬汚染の生じている可能性のある河川やその季節をスクリーニングする手法の開発が求められてきている。

ミジンコは有機りん系殺虫剤によりppbレベルで遊泳阻害をうける。そこでミジンコの有機りん系殺虫剤に対する高い感受性をこのスクリーニング試験に利用できるかどうかを実際の河川水を用いて検討した。

2 試験方法

(1) 河川水の採水

江戸川(新葛飾橋)、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(東秋川橋)、成木川(両郡橋)、中川(潮止橋)の計8地点(図1)で1995年5月から8月にかけて約2週間ごとに合計8回採水した。ミジンコ試験用試料については、凍結保存し、試験の直前に解凍して検水とした。農薬の化学分析用試

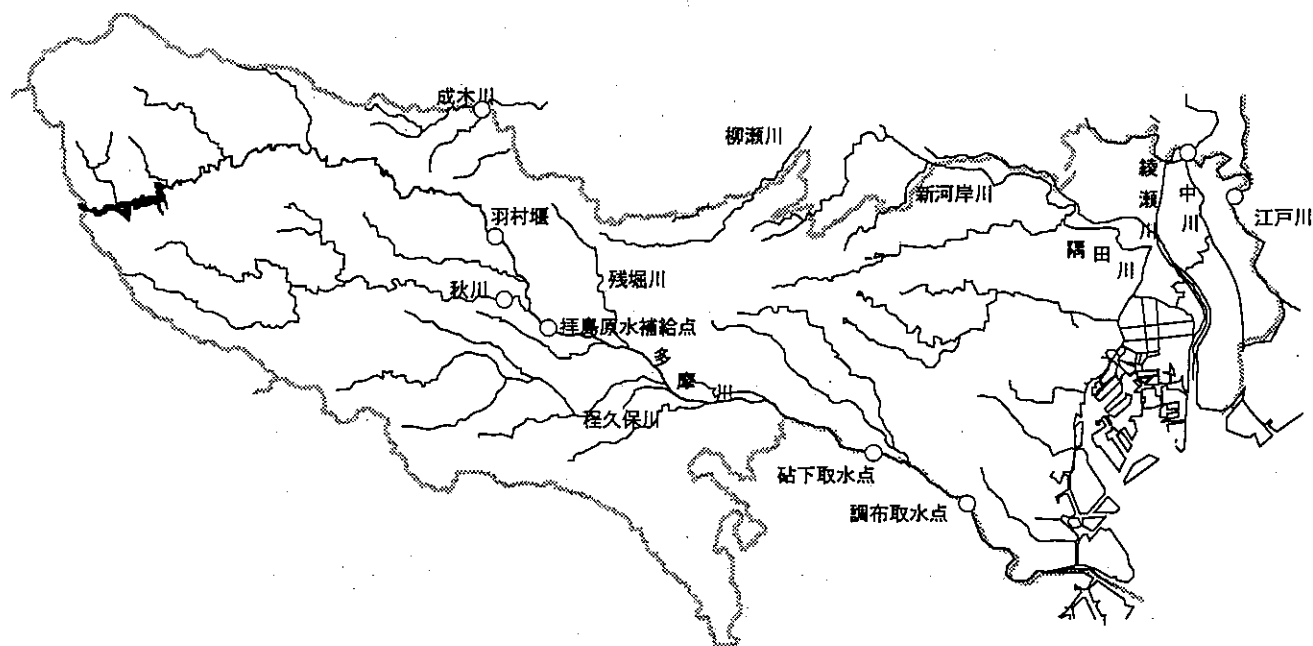


図1 河川の調査地点

料については、冷蔵して実験室に搬入して検水とした。

(2) ミジンコ遊泳阻害試験

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」によった。詳細は前報¹⁾で述べたが、ミジンコとしては、オオミジンコ *Daphnia magna* クローン5を用いた。河川水(pH 7~8) 約20mlをとり、この中に生後24時間以内の幼体5個体を入れ、これを4連で試験し、48時間後の遊泳阻害の状況を観察した。なお水温21℃、照度1000~2000ルクス(16時間明-8時間暗)、溶存酸素7mg/l以上で試験した。

(3) 農薬の化学分析

エムポアディスクを用いて検水5 lから固相抽出したのち、水質環境基準、要監視項目や公共用水域の水質評価指針値が定められた農薬のうちでGC/MSで一斉分析できる次の35農薬を分析した。分析方法の詳細は前報²⁾で述べた。検出限界はいずれも0.0001mg/lである。なおこの分析で指針値等に近い値が検出された場合には公定法で再分析し、その値を採用した。

チオベンカルブ、シマジン、イソキサチオン、ダイアジノン、フェニトロチオン、イソプロチオラン、クロロタロニル、プロミザミド、ジクロロボス、フェノブカル

ブ、イプロベンホス、クロルニトロフェン、EPN、モリネート、ジクロフェンチオン、プロモブチド、トリクロホスメチル、カルバリル、シメトリン、プロベナゾール、エスプロカルブ、マラチオン、クロルピリホス、フラサイド、ペンディメタリン、ブタミホス、トリシクラゾール、フルトラニル、プレチラクロール、ブプロフェジン、メプロニル、エジフェンホス、ピリダフェンチオン、イプロジオン、メフェナセット

3 結果と考察

(1) 有機りん系殺虫剤による汚染とミジンコの遊泳阻害との関係

表1に有機りん系殺虫剤が検出された地点につき、汚染濃度、ミジンコの遊泳状況と検出された総農薬数等を示す。

調査結果の最も大きな特徴は、有機りん系殺虫剤をはじめとする多数の農薬がこれらの調査地点の多くで検出され、またミジンコにもたびたび遊泳阻害が観察されたことである。

ミジンコの有機りん系殺虫剤に対する24時間半数致死濃度(以下「24h-LC50」と言う。)値^{3,4)}は低く、数~

表1 都内河川8地点における有機りん系殺虫剤の濃度とミジンコの遊泳阻害との関係
(汚染濃度の単位: mg/ℓ)

採水月日	地点	ダイアジノン	MEP	DDVP	ピリダフェンチオン	ミジンコ遊泳状況**	毒性総和値	検出された総農薬数
5/11	多摩川調布取水点*	ND	0.0001	ND	ND	×	0.13	1
5/25	多摩川調布取水点*	ND	0.0001	ND	ND	×	0.13	1
6/8	中川	0.0001	0.0002	ND	0.0020	×	2.58	15
6/22	江戸川	0.0003	ND	ND	ND	○	0.36	10
	多摩川砧下取水点*	0.0002	0.0002	0.0001	ND	○	0.98	7
	多摩川調布取水点	0.0002	0.0001	0.0001	ND	×	0.85	6
	中川	0.0004	0.0002	ND	ND	×	0.74	14
7/10	江戸川	0.0001	ND	ND	ND	○	0.12	5
	中川	0.0002	ND	0.0001	ND	×	0.71	10
7/20	中川	0.0001	ND	ND	ND	○	0.12	11
8/3	多摩川砧下取水点	ND	0.0002	0.0001	ND	×	0.74	4
	多摩川調布取水点	ND	0.0001	0.0001	ND	×	0.61	2
	成木川	0.0003	ND	ND	ND	○	0.36	2
	中川	0.0002	ND	ND	ND	○	0.24	7
8/17	多摩川砧下取水点	ND	0.0002	0.0001	ND	×	0.74	2
	多摩川調布取水点	ND	0.0002	0.0001	ND	×	0.74	2
	成木川	ND	ND	0.0003	ND	×	1.43	1
検出限界		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001			
指針値等		0.005	0.003	0.010	0.002			
ミジンコ48h-EC50		0.00084	0.00076	0.00021	0.00091			

注)

1)これ以外の地点では有機りん系殺虫剤は検出されず、またミジンコの遊泳阻害も観察されなかった。

2)略号は次のとおりである。

MEP(フェニトロチオン), DDVP(ジクロロボス)

3)毒性総和値は(各農薬の汚染濃度/ミジンコ48h-EC50)の和である。

*毒性総和値=0.6を判断の基準とした場合にミジンコの遊泳阻害と一致しない検水

**遊泳可○, 遊泳阻害×

数十ppbのレベルであることがわかっている。そこで検出された有機りん系殺虫剤について48時間半数遊泳阻害濃度(以下「48h-EC50」と言う。)を測定し、表1にあわせて示した。48h-EC50はいずれも0.001mg/ℓ以下の値である。

ミジンコの遊泳阻害が引き起こされる原因を検討するため、この48h-EC50を基にして前報りと同様に河川水の毒性総和値を求めると、表1に示したように3つの例外はあるが、和が0.6以上でミジンコの遊泳阻害が観察された。なおこの表以外の地点あるいは採水日には有機りん系農薬は検出されず、またミジンコの遊泳は阻害

されなかった。したがって、64検水中3検水の例外はあるが、遊泳阻害はこれらの有機りん系殺虫剤による水質汚染で説明でき、前報りでの結果をさらに確認した。

なお有機りん系殺虫剤のイソキサチオンは今回の調査では検出されなかったが、この農薬の急性毒性は特に強く、48h-EC50は0.0001mg/ℓである。またジクロロボスも毒性が強く、48h-EC50は0.00021mg/ℓであり、0.0001mg/ℓの濃度の変化で毒性値の和を0.5変える。このようなことから、汚染と阻害が一致しない3地点では、①化学分析の対象にならなかった農薬による汚染、②化学分析で検出されないレベルでの汚染、あるいは③検出

限界付近での汚染データの値のふれ、などと関係があるのではないかと推察した。

(2) ミジンコの遊泳阻害による有機りん系殺虫剤汚染等の検出の可能性

このように試験した有機りん系殺虫剤5つの48h-

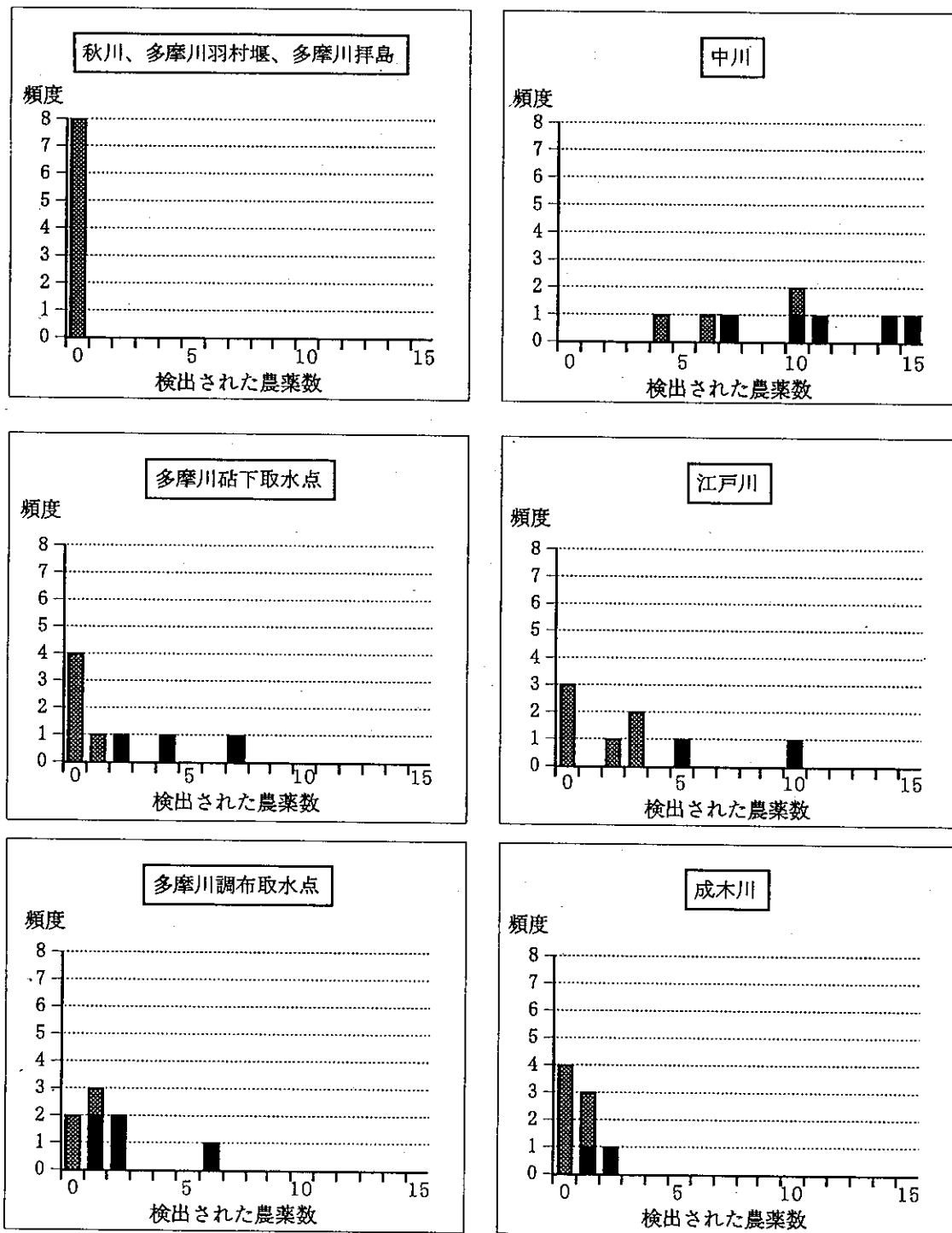


図2 農薬が検出された頻度と総検出農薬数との関係

有機りん系殺虫剤が検出されなかった場合
 有機りん系殺虫剤が検出された場合

EC50値はおよそ0.001mg/ℓ以下である。また今回検出されなかったいくつかの有機りん系殺虫剤の24時間半数致死濃度(24h-LC50)は、EPNで0.0012mg/ℓ、クロルピリホスで0.0038mg/ℓ、トリクロルホンで0.0023mg/ℓであり^{3,4)}、いずれもフェニトロチオンやジクロルポス等に匹敵する毒性を示している。したがって48h-EC50も0.001mg/ℓ以下の値となると予想できる。

以上のことから、これらの有機りん系殺虫剤がおおむね0.001mg/ℓ以上の濃度で水質を汚染していれば、ミジンコの遊泳阻害の有無を指標として汚染を検出できると期待できる。

これらの値は公共用水域等の要監視項目あるいは水質評価指針値とくらべると、その1/2~1/50である。したがって、この検出レベルは人の健康への評価の観点から水質分析を行う場合の感度としてほぼ十分なレベルにある。

(3) ミジンコ遊泳阻害試験の水質汚染スクリーニングへの適用

表1の都内河川水の水質汚染の状況を見ると、河川や時期によっては数多くの農薬が検出されることが分かる。中でも有機りん系殺虫剤は延べ64検水中17検水で検出された。有機りん系殺虫剤が検出されないにもかかわらずそのほかの農薬が検出される割合は、64検水中10検水である。図2に示したように、河川ごとに見ると、有機りん系殺虫剤が検出された場合には、検出されない場合よりも数多くの農薬に汚染されていることが分かる。したがってこの有機りん系殺虫剤による汚染を指標にして、ミジンコによる試験を機器分析のためのスクリーニング法として使い、機器分析による詳細調査が必要な地点や時期をピックアップする目的に使うことができると考える。

今回の8地点8回延べ64回の河川の水質調査の結果⁹⁾をミジンコの遊泳阻害試験とあわせて分類すると表2のとおりになる。なお今回の結果では、ミジンコの遊泳阻害試験での阻害の有無に係わらず、水質環境基準、要監視項目に定められた農薬の基準値あるいは公共用水域等における農薬の水質評価指針値をこえた検水はなかった。

ミジンコが遊泳阻害された検水では、有機りん系殺虫剤を必ず(11検水中11検水)検出した。ミジンコに阻害がない検水では、有機りん系殺虫剤を低レベルで(0.001mg/ℓ未満)検出した確率は11%(53検水中6検水)であるが、有機りん系殺虫剤を0.001mg/ℓ以上の濃度で検出した確率は0%(53検水中0検水)である。このことから、このスクリーニング法は上記の基準値や指針値以下での有機りん系殺虫剤による汚染を検出する目的に十分に利用できることが分かった。

しかし有機りん系殺虫剤を検出しないにもかかわらずその他の農薬を検出する確率は16%(64検水中10検水)ある。有機りん系殺虫剤の汚染が0.001mg/ℓ以下でかつそれ以外の農薬がこれらの指針値等をこえている場合には、このミジンコ遊泳阻害試験によるスクリーニングは役立たないが、このような汚染が現実存在するのかどうかは今後の課題である。

農薬の化学分析は、帝人エコ・サイエンス㈱に委託して行った。

引用文献

- 1) 菊地幹夫, 若林明子: ミジンコを用いた生態系リスク調査, 東京都環境科学研究所年報 1996, p.88-92.
- 2) 佐々木裕子ほか: 河川水の変異原性と原因物質の検

表2 64検水へのスクリーニング試験の適用結果

ミジンコ試験		化学分析	
64検水	遊泳阻害なし 53検水	有機りん系殺虫剤を0.001mg/ℓ以上で検出	0検水
		有機りん系殺虫剤を0.0001~0.001mg/ℓ未満で検出	6検水
		有機りん系殺虫剤を検出しないが、ほかの農薬を検出	10検水
		対象としたいずれの農薬も検出しない	37検水
	遊泳阻害された 11検水	有機りん系殺虫剤を検出	11検水
		有機りん系殺虫剤を検出しない	0検水

索について，東京都環境科学研究所年報 1996，p. 80-87.

3) 西内康浩：農薬の水生動物に対する影響評価—VII—オオミジンコに対する毒性—，生態化学，8(2)，p.15-20 (1985) .

4) 西内康浩：農薬の水生動物に対する影響評価—X—オオミジンコに対する毒性(2)—，生態化学，9(4)，p. 16-22 (1989) .

5) 東京都環境保全局：平成7年度公共用水域の水質測定結果，p.395-398(1996) .