

ミジンコを用いた都内河川水のリスク評価

塩田 勉 *菊池 幹夫 若林 明子
(*神奈川工科大学)

要 旨

都内河川水の水生生物に対するリスク評価の一環として、4年間に渡り都内7地点の河川水についてミジンコ遊泳阻害試験を行い、甲殻類に対する急性的なリスクを直接把握した。また、河川水中の農薬濃度の化学分析も合わせて行い、遊泳阻害の原因物質を探索した。その結果、中川の潮止橋付近が最も甲殻類に対するリスクが高く、ついで多摩川の調布・砧付近のリスクが高いことがわかった。それぞれの河川における特徴として、中川では6月～7月にかけて恒常的にミジンコの遊泳阻害が発生し、その主な原因物質はピリダフェンチオン・DDVP・ダイアジノンであった。一方、多摩川は5月～8月にかけてしばしば遊泳阻害が発生し、主な原因物質はDDVP・MEP・ダイアジノンであった。特に、中川におけるピリダフェンチオンと多摩川におけるDDVPは、それぞれ単独でミジンコ半数遊泳阻害濃度を超える場合があり、早急にそれらが甲殻類に及ぼすリスクを低減する必要がある。

キーワード：生態リスク評価、ミジンコ、遊泳阻害試験、農薬、毒性総和値

Ecological Risk Assessment of River Water in Tokyo using *daphnia magna*

Tsutomu Shioda, Mikio Kikuchi* and Meiko Wakabayashi

* Kanagawa Institute of Technology

Summary

The toxic effects of river water on aquatic organisms were assessed using an acute immobilization test on *daphnia magna*. It was performed using water samples collected from 8 sites representing 4 rivers in Tokyo over a 4 year period. In addition, analysis of pesticides was performed using gas chromatography-mass spectroscopy, and their concentrations were compared with each EC50 values of *daphnia magna* to calculate toxic unit that is an index of joint toxicity.

The results indicate that the samples collected in June and July from Naka River often inhibit the mobility of *daphnia magna*, while those collected downstream of the Tama River between March and August sometimes inhibit it. Naka River was contaminated by pesticides such as pyridaphenthion, DDVP and diazinon in June and July. Contamination measured downstream of the Tama River included pesticides such as DDVP, MEP, and diazinon. Concentrations of pyridaphenthion in the Naka River and DDVP in Tama River were high enough to immobilize *daphnia magna*. Accordingly, concentrations of selected chemicals need to be reduced in order to protect aquatic organisms.

Keywords : ecological risk assessment, immobilization test, *daphnia magna*, pesticides, toxic unit

1 はじめに

河川水は様々な化学物質により汚染されており、水域

生態系への悪影響が懸念されている。特に開放系で使用される農薬は直接水域に流入するため、使用方法・時期

によっては高濃度で河川を汚染し、そこに棲む水生生物に有害な影響を及ぼす恐れがある。そのような化学物質の生態系への影響を直接的に把握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。

バイオアッセイでは用いる生物種により感受性が異なるため、OECDや環境庁では、化学物質が生態系に及ぼすリスクを評価する際には、少なくとも藻類・甲殻類・魚類の3生物種に関する毒性データを用いて総合的に評価する必要があるとしている。このことをふまえて本研究では、都内河川水が水生生物に及ぼす急性的な影響を直接的かつ総合的に把握するため、定期的にサンプリングした都内河川水についてミジンコ遊泳阻害試験・藻類増殖阻害試験およびヒメダカ仔魚急性毒性試験を行っており、一部については既に報告した^{1) 2)}。

なかでもミジンコ遊泳阻害試験は簡便・迅速に河川水

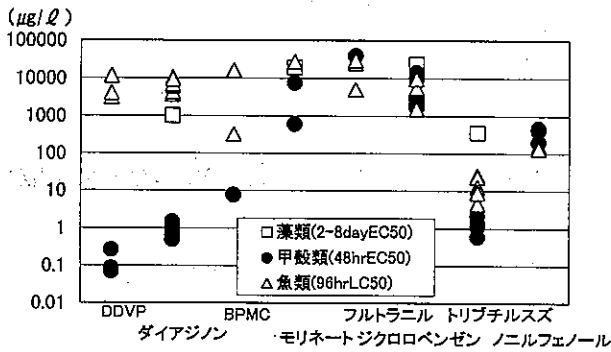


図1 生物種・化学物質による感受性の変化 (文献³⁾より引用)

が甲殻類に及ぼす毒性を把握することができ、また日本工業規格で規格化されるとともにOECDにおいてガイドライン化されていることから多くの毒性データが揃っている。合わせて化学分析を行うことにより、ミジンコに毒性を及ぼす原因物質の探索も可能である。数種の化学物質に対するミジンコ・藻類・魚類の感受性を比較した結果を見ると(図1)、ミジンコは他の生物と比較すると特に有機リン系の農薬(DDVP、ダイアジノン)に対して100倍以上高い感受性を有していることがわかる。国立環境研究所の調査では、つくば市周辺の河川では農薬散布時に甲殻類の死亡率が増大し、その原因物質は有機リン系の殺虫剤である可能性が極めて高いと報告されている³⁾。この結果を踏まえると、一部の農村地帯の河川水は甲殻類に対するリスクが極めて高い状態にあると考えられる。

そこで今回は、都内河川水が甲殻類に及ぼす急性的なリスクを評価するために4年間行なってきたミジンコ遊泳阻害試験と農薬濃度分析の結果をまとめ、既存の調査結果に新たな結果を加えて下記の項目について検討を行った。

- ① 地点別の遊泳阻害発生状況
- ② 遊泳阻害発生の季節変化
- ③ ミジンコ遊泳阻害の原因物質
- ④ 都内河川における甲殻類へのリスク評価

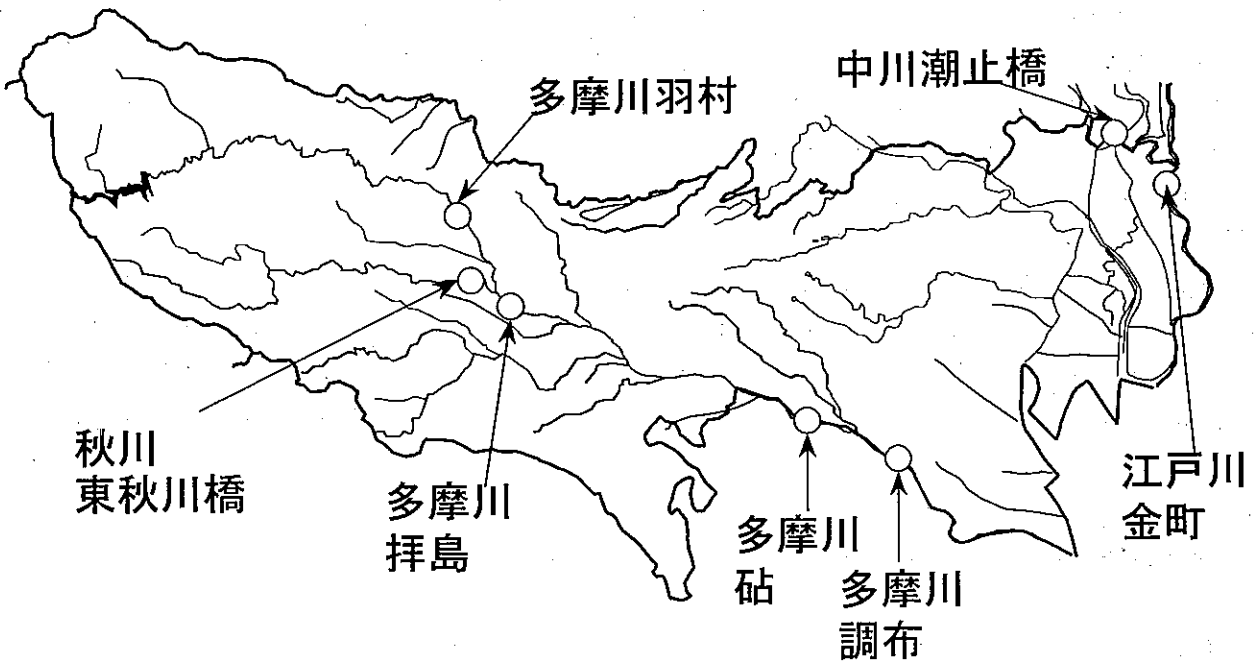


図2 調査地点

2 調査方法

(1) 調査河川と採水時期

図2に示す地点において、1995年5月～8月まで8回、1996年6月～2月まで6回、1997年6月～2月まで6回、1998年6月～10月まで6回、それぞれ採水した。採水した試料は凍結して保存し、試験時に解凍してミジンコ遊泳阻害試験に供した。

(2) ミジンコ遊泳阻害試験

試験方法はJIS K0299「化学物質などによるミジンコ類の遊泳阻害試験」に準拠した。

ア 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: CaCO₃として70mg/ℓ、pH: 約7.0) で市販の*Chlorella sp.* (クロレラ工業) を給餌し、水温20±1℃で飼育した。

イ 試験方法

河川水を用いた遊泳阻害試験では、解凍した河川水試料約20ml中に生後24時間以内のオオミジンコの幼体を5個体入れたものを4連作成し、計20個体について48時間後の遊泳阻害状況から遊泳阻害率 (%) を算出した。ミジンコが死亡、あるいは触覚は動かしても遊泳できない状態を遊泳阻害とした。試験条件は水温20±1℃、照度1000～2000lux (16時間明8時間暗条件) とし、pHは6.9～8.0、溶存酸素は試験終了時においてもほとんどの試料で5.7mg/ℓ以上を保った。但し、中川の河川水で2サンプルが3.0、4.8mg/ℓとなった。

農薬を用いた遊泳阻害試験では、各農薬は原体を使用した。脱塩素水道水を希釈水として使い、各農薬原体を所定の濃度に溶解して試験水とした。溶解補助剤にはアセトンを使い、試験水のアセトン濃度は100μL/L以下とした。濃度公比3で5段階の濃度を設定し、48時間後の遊泳阻害状況からprobit法により半数遊泳阻害濃度 (48hrEC50) を算出した。試験は河川水の場合と同様であり、pHは7.1～7.9、溶存酸素は試験終了時においても7.8mg/ℓ以上を保った。

(3) 農薬の化学分析

ガラス瓶に採水した河川水は、河川水3～5LをPS固相抽出ディスクプレート (エムポア@3M) を用いて固相抽出し、ジクロロメタンで溶出し、無水硫酸ナトリウムで脱水した。この溶液を1mlに濃縮し、キャピラリカラム (J&W, DB-5, 30m×0.25mm×0.1μm) を装着し

たガスクロマトグラフ質量分析計 (selected ion monitor, QP5000, Shimazu) で分析した。分析条件は次のとおりである。カラム温度50℃ (2min) -20℃/min-100℃ (0min) -10℃/min-170℃ (0min) -5℃/min-245℃、注入口温度250℃、インターフェイス温度250℃。分析した35種類の農薬のうち検出された21種類を表1に示す。それぞれの農薬の検出限界は0.1μg/ℓである。

表1 検出された農薬とそのミジンコ48hrEC50値

農薬名	48hrEC50(μg/ℓ)	95%信頼限界
チオベンカルブ	1241	872-1803
シマジン*	1100	
ダイアジノン	0.84	0.74-1.0
MEP	0.76	0.65-0.99
イソプロチオラン	>5000	-
クロタロニル*	97	
DDVP	0.21	0.18-0.23
BPMC	7.76	5.69-10.5
イプロベンホス	>100	-
モリネート	>2500	-
プロモブチド	>1000	-
カルバリル*	5.6	
シメトリン	>50000	-
エスプロカルブ*	947	
プロペナゾール*	27500	
トリシクラゾール*	55000	
フルトラニル	>2500	-
プレチラクロール*	159	
ブプロフェジン*	1959	
ピリダフェンチオン	0.91	0.8-1.1
メフェナセツ	>2500	-

(*文献⁵⁾より引用)

3 結果と考察

(1) 地点別の遊泳阻害発生状況

4年間の地点別遊泳阻害発生状況を図3に示す。多摩川の羽村・拝島、江戸川の金町、秋川の東秋川橋では、4年間の遊泳阻害発生回数が0もしくは1回であり、これらの河川水は甲殻類にほとんど影響を与えていなかった。一方、多摩川の砧・調布と中川の潮止橋の河川水ではしばしば遊泳が阻害された。このうち砧・調布では、平成7年にしばしば遊泳阻害が見られたがそれ以降はほとんど遊泳阻害は観察されていない。一方中川は、4年間引き続いて遊泳阻害が観察されており、甲殻類に対する急性的なリスクが高い状態が続いている。

(2) 遊泳阻害の発生時期

しばしば遊泳阻害の観察された多摩川砧・調布と中川潮止橋における遊泳阻害の発生時期を整理した (図4)。

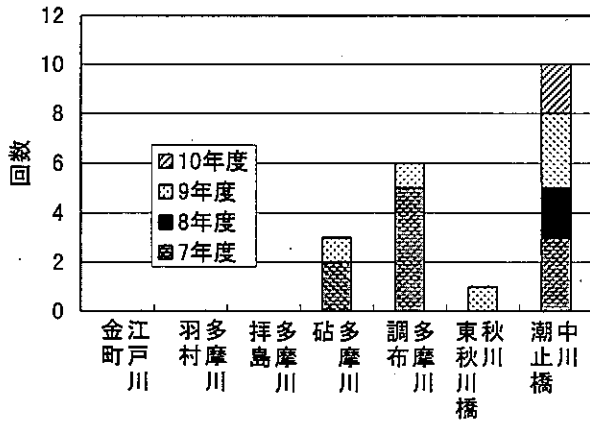


図3 地点別遊泳阻害発生件数

遊泳阻害の発生は5月～8月の農業が最も多く散布される時期に集中しており、それ以外の時期との差が大きい。11月から4月までのデータが不足しているが、少なくとも2月の調査においては両地点とも遊泳阻害率0%であった。

河川別の特徴としては、多摩川においては5月～8月にかけて遊泳阻害が数回発生しているが、この間遊泳阻害が発生しない日も多かった。また、砧で遊泳阻害が発生した日は必ず調布においても遊泳が阻害されており、上流の汚染が下流域にまで広がっている状況が考えられた。

一方、中川潮止橋における遊泳阻害の発生は6、7月に集中しており、この期間に採水した13検体のうち10検体において遊泳阻害が観察された。本調査では11月～4月のデータが不足しているが、過去に中川の定点を1年間採水調査した結果では、6、7月以外での遊泳阻害発生回数は少なかった。このことから、6、7月中川の河川水は甲殻類に対する急性的なリスクが恒常的に高く、水域生態系に重大な影響を及ぼしており早急な対策が必要である。

(3) ミジンコ遊泳阻害の原因物質

ア 毒性総和値の算出

このように遊泳阻害の発生時期が農業の散布時期とほぼ一致していること、またミジンコは有機リン系農業に対して特異的に高い感受性を有することを考えると、遊泳阻害の原因物質は農業である可能性が高い。そこで河川水中の農業濃度の分析結果をもとに、河川水中の農業がミジンコに及ぼす毒性を総合的に表す指標として、既報⁴⁾と同様に「毒性総和値」を算出した。算出式は以下

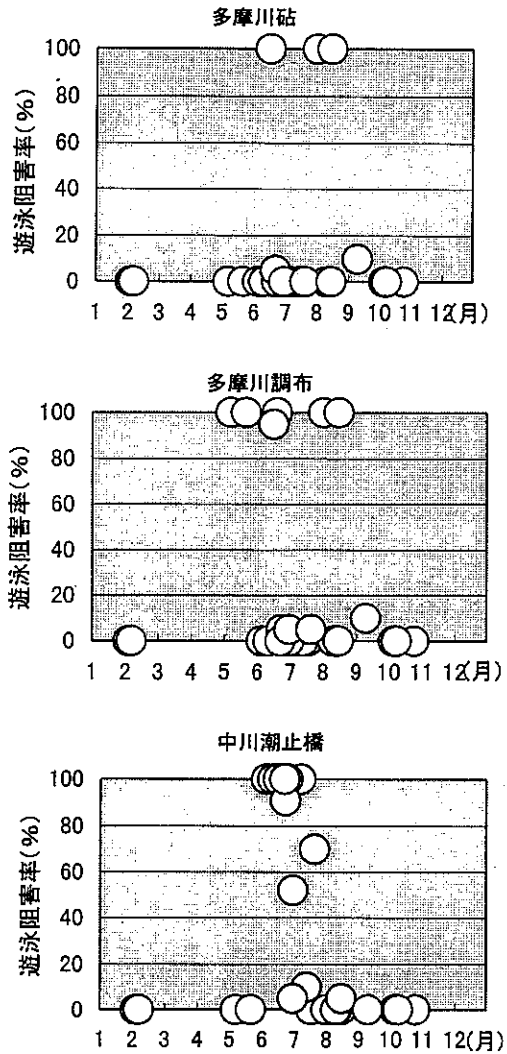


図4 遊泳阻害の発生時期

のとおりである。

$$\text{毒性総和値} = \sum \frac{\text{河川水中濃度}}{\text{ミジンコ48hrEC50}}$$

なお各農業のミジンコに対する48hrEC50値については、文献値⁴⁾のあるものについてはそれを引用したが、無いものについては試験を行って算出した。表1に48hrEC50値の一覧を示す。農業のミジンコに対する毒性が相加的である場合、本式より求めた毒性総和値が1を越えると半数のミジンコに遊泳阻害が起きることになる。

4年間のデータについてこの総和値と遊泳阻害率の関係を調べた結果を図5に示す。総和値が0.7以上の検体では15検体中13検体で遊泳阻害率が100%を示したのに対し、総和値が0.7未満の検体では遊泳阻害率が50%を

越えたのは167検体中7検体であった。このように毒性総和値が0.7を超えると遊泳阻害率が高くなっていることから、遊泳阻害の原因物質として農業が有力であると考える。しかし、総和値が低くても遊泳が阻害される場合がいくつかあった。これは、分析していない農業による影響や、一部の農業による相乗毒性等が原因であると考えた。

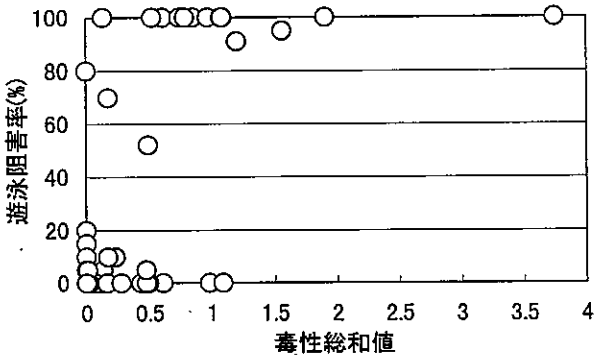


図5 毒性総和値と遊泳阻害率の関係

イ 原因となる農業の種類

毒性総和値が0.7を越えた検体について、総和値に占める各農業の種類別割合を示す(図6)。ミジニコに毒性を示す恐れのある濃度で検出された主な農業は図に示した5種であり、このうち、ピリダフェンチオン、フェノブカルブ(BPMC)、ジクロロボス(DDVP)はミジニコ半数遊泳阻害濃度を越える濃度で検出される場合があった。

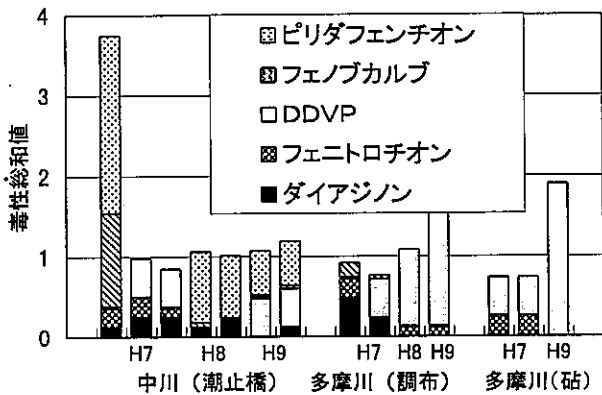


図6 毒性総和値に占める農業の種類別内訳

図6より、中川と多摩川の農業汚染にそれぞれ特徴が見られることがわかる。中川において最も甲殻類に対するリスクが高い農業はピリダフェンチオンであり、次い

でDDVP、ダイアジノンであった。BPMCは平成7年に一度だけ半数遊泳阻害濃度を越える濃度で検出されたが、それ以降はほとんど検出されていない。一方、多摩川において最もリスクの高い農業はDDVPであり、次いでフェントロチオン(MEP)、ダイアジノンの順であった。このような違いが生じる要因としては、それぞれの河川流域における農耕地の種類(水田、畑)や使用農業の種類等の違いが考えられる。

そこでそれらを反映する一つの指標として農業の出荷量に着目し、東京都と埼玉県における上記5種の農業の出荷量を概算により求めた(表2)。出荷量の算定に当たっては、農業要覧⁹⁾に記載されている農業種類別県別出荷数量表をもとに、農業原体量に換算して求めた。このデータはあくまでも都もしくは県全体での出荷量であるが、中川においてのみミジニコに毒性を及ぼす濃度で検出されたピリダフェンチオン・BPMCは東京都の10倍以上の量が埼玉県において出荷されていた。その他のダイアジノン・MEP・DDVPについては出荷量の差が2~4倍程度と小さく、出荷量と検出濃度に関係は見られなかった。すなわち調査した5種類の農業については、出荷量が1オーダー以上異なる場合、河川水中の検出濃度に違いが生じた。

表2 東京都と埼玉県における主な農業の出荷量経年変化(単位: t)

農業名	東京都				埼玉県			
	H7年	H8年	H9年	H10年	H7年	H8年	H9年	H10年
ピリダフェンチオン	0.42	0.31	0.20	0.26	4.4	3.4	2.4	2.1
BPMC	0.16	0.24	0.10	0.03	20.3	15.5	14.6	12.1
DDVP	16.1	21.1	11.7	10.8	19.6	21.8	24.8	22.3
MEP	61.4	63.7	62.2	58.5	22.5	23.3	26.8	26.3
ダイアジノン	5.2	5.6	6.0	5.3	20.4	20.3	23.6	23.2

(文献⁹⁾のデータより算出)

より詳細に出荷量と検出濃度との関係を明らかにするためには、各農業についての生分解性・水への溶解度・土壌への吸着性といった物理化学的性質や、散布時の天候・散布場所の地理的特性等も把握する必要がある。

4 まとめ

ミジニコを用いたバイオアッセイにより都内7地点の河川水を調査した結果、数地点で遊泳阻害が発生し、その原因物質として有機リン系の農業が考えられた。特に中川におけるピリダフェンチオンと多摩川におけるDDVPは、それぞれ単独でミジニコ半数遊泳阻害濃度を超える場合があり、甲殻類に対して急性的なリスクを有

する化学物質となっている。

健全な生態系を維持するためには、早急にこれらの農薬が甲殻類に及ぼすリスクを低減するためのリスクマネジメントを講じなければならない。具体的には、毒性の高い農薬に代わり低毒性の農薬を開発・販売するといった使用前段階における対策や、雨天時もしくは雨天が予想されるときには散布を極力避けるといった使用段階における対策が有効であろう。

今回はミジンコに対するリスクを急性毒性から評価したが、水域生態系を構成する生物は甲殻類だけではない。水域生態系全体に対するリスクを評価するためには、少なくとも栄養段階の異なる数種の生物についてリスク評価を行う必要がある。本研究では藻類増殖阻害試験およびヒメダカ仔魚急性毒性試験による河川水の評価も合わせて行っており、今後ミジンコ遊泳阻害試験の結果と合わせて総合的に河川水の急性的なリスクを評価していく。

本研究における農薬の化学分析は、環境保全局水質保全部水質監視課が帝人エコ・サイエンス(株)に委託して行った。

引用文献

- 1) 佐々木裕子ら：水環境中の有害化学物質把握のためのバイオアッセイと化学分析，東京都環境科学研究所年報 1998, p.93-100.
- 2) 菊池幹夫ら：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，東京都環境科学研究所年報 1996, p.93-98.
- 3) 国立環境研究所特別研究報告：水環境における化学物質の長期曝露による相乗的生態系影響に関する研究, p.64 (1995).
- 4) 菊池幹夫ら：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.
- 5) U.S.E.P.A.データベース,AQUIRE.
- 6) 農林水産省農産園芸局植物防疫課監修：農薬要覧(1995-1998)，日本植物防疫協会.