

国立環境研究所特別研究報告

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

SR-19-'95

# 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

Multiplier Effects of Chemical Pollutants at Ecosystem Level  
in Aquatic Environments

平成元～5年度  
FY 1989～1993

NIES

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立環境研究所

SR-19-'95

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

Multiplier Effects of Chemical Pollutants at Ecosystem Level  
in Aquatic Environments

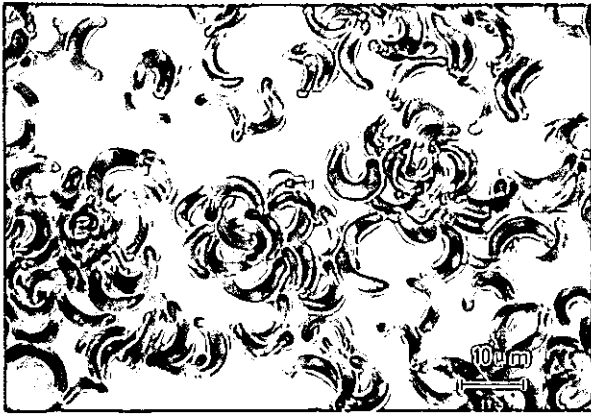
平成元～5年度  
FY 1989～1993

環境庁 国立環境研究所

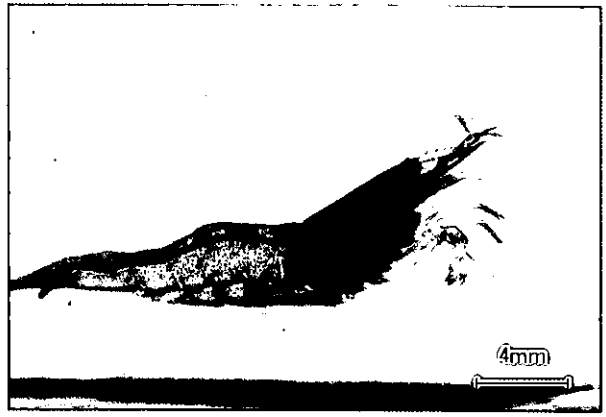
NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

特別研究「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」  
(期間 平成元～5年度)

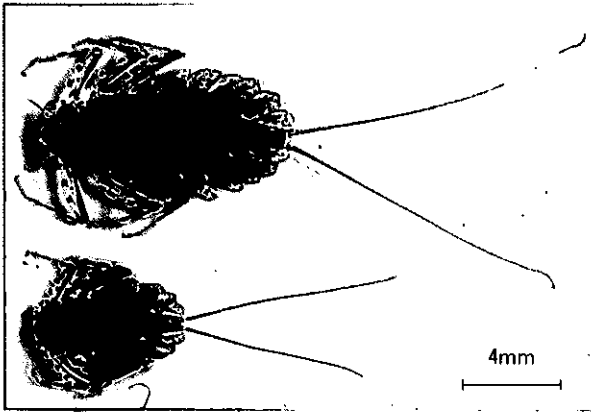
特別研究責任者：内藤正明  
特別研究幹事：畠山成久  
報告書編集担当：畠山成久・笠井文絵



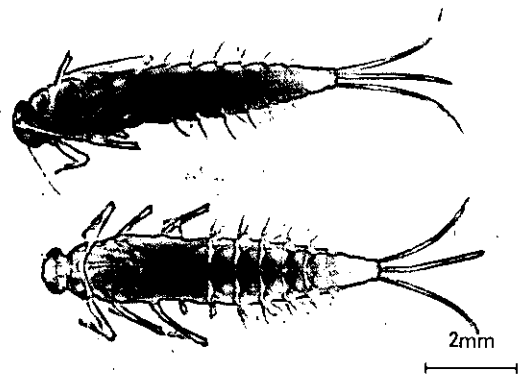
セテナストルム (緑藻)  
(*Selenastrum capricornutum*)



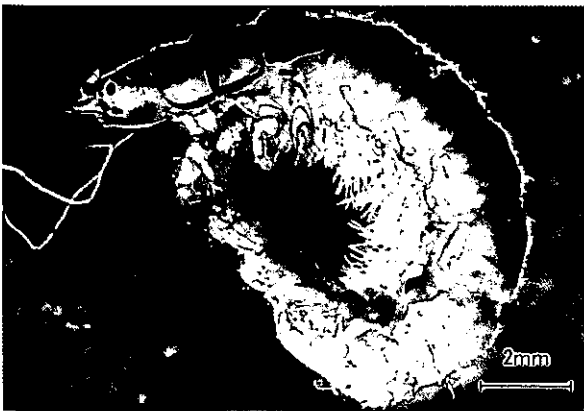
ヌカエビ  
(*Paratya compressa improvisa*)



エルモンヒラタカゲロウ  
(*Epeorus latifolium*)



サホコカゲロウ  
(*Baetis sahoensis*)

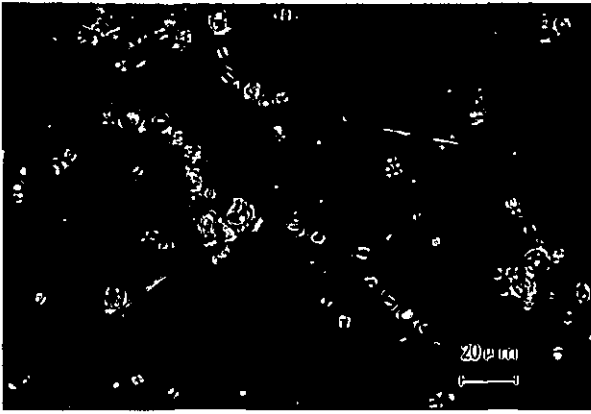


コガタシマトビケラ  
(*Cheumatopsyche brevilineata*)

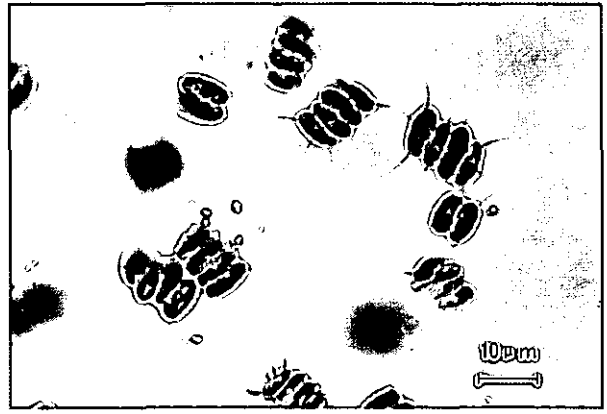


セスジユスリカ  
(*Chironomus yoshimatsui*)

口絵写真1 河川生態系における農薬類の生態影響評価  
—生物試験及び生態影響評価に関連した水生生物から—



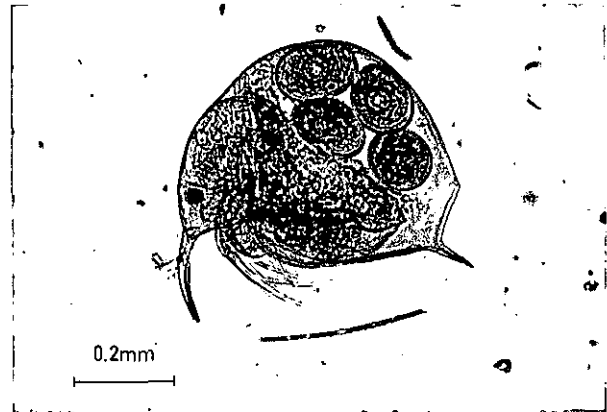
珪藻 (位相差顕微鏡像)



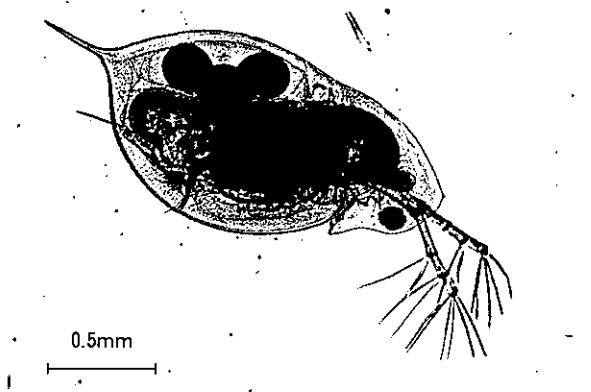
セネデスムス  
(*Scenedesmus* sp.)



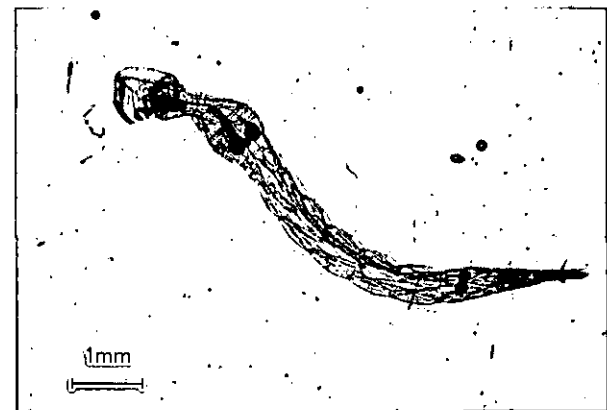
コシボソカメノコウワムシ  
(*Keratella valga*)



ニセゾウミジンコ  
(*Bosmina fatalis*)



カブトミジンコ  
(*Daphnia galeata*)



フサカ幼虫  
(*Chaoborus flavicans*)

口絵写真2 湖沼生態系に対する農薬の生態影響評価  
—実験水槽に出現した代表的なプランクトン—

## 序

本報告書は平成元年から5年度にかけて実施した特別研究「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」をとりまとめたものである。

戦後ほぼ50年間に各地の生態系は物理的な環境破壊に化学物質の汚染が加わり激的な変化を受けた。しかし近年の化学物質の汚染は多様化しているものの、著しく毒性の高い化学物質の環境汚染は少なくなり、顕著な生態影響は一見認められなくなってきた。本研究の目的は二つあった。一つは、近年あるいは現在における化学物質の環境汚染が果たして生態系に対して全く影響がないのか、あるいは潜在的な生態影響があった場合それがいかなるものかを評価することであった。もう一つは、化学物質の生態系影響は生物間の相互関係によっていかに変化を受けるかを明らかにすることであった。

第一の課題に関しては、環境研究所の近辺と東北地方の様々な河川における野外調査や生物試験により、重要な知見が得られた。ここ数十年来農業等の化学物質により、多くの河川の生態系はすでに相当な影響を受けてきた。しかし現在の農薬類汚染では魚類が各地で死亡するなどという現象はごくまれな出来事となった。そうではあっても、この報告書にみられるように農薬類の潜在的生態影響は無視できない。そして、もしこれらの影響がなければ河川生態系は現在の状況からかなり回復に向かうポテンシャルを有していると判断される。さらに本報告書は、感受性の高い水生生物に対する農薬類の複合汚染やその慢性的影響の評価は今後いっそう重要であることを示している。

第二の課題の生態影響評価に関しても重要で示唆的な研究成果が蓄積された。国内において各種の学会、シンポジウム、検討会などで化学物質の生態系に及ぼす影響やそのメカニズムを検討する段になると、あたかも生態系はブラックボックスのようにみなされ議論の対象になることはまれであった。本研究では、湖沼モデルの実験生態系を用い、化学物質が湖沼の生態系に及ぼすメカニズムで影響を及ぼすかについて様々な実験を行った。実験生態系内の構成生物種の変動と生物間の相互作用、化学物質の濃度変動、構成生物種の感受性の種間差などの総合的なデータ解析により、化学物質の生態影響の機構は単にブラックボックスとして扱うのではなく、その内容の解明が可能な対象であることを示している。

もとより、化学物質の生態系への影響評価は一つのプロジェクト研究で終わるものではなく、未解明な問題や今後の新たな問題にも対応する必要がある。本研究の成果については様々な評価とご批判をいただき、今後も化学物質の生態影響評価の確立に向けての調査研究に役立てさせて頂く所存である。

おわりに、研究を推進する上で研究所外の多くの方々にご協力とご助言を頂いた。ここに深く感謝の意を表します。

平成7年3月

国立環境研究所

所長 鈴木継美

## 目 次

1 研究の目的と経緯 .....	1
1.1 研究の目的 .....	1
1.2 研究の構成 .....	1
2 研究の成果 .....	3
2.1 河川生態系における農薬類複合汚染の生態影響評価 .....	3
2.1.1 除草剤複合汚染の生態系影響評価 .....	3
2.1.2 殺虫剤を主体とする農薬類複合汚染の生態影響評価 .....	7
2.1.3 殺虫剤に対する水生昆虫の感受性の種間差と生息環境の関係 .....	14
2.1.4 ユスリカの殺虫剤に対する感受性差と殺虫剤汚染環境との関係 .....	15
2.1.5 タガメの農薬類感受性と絶滅危機の原因に関して .....	19
2.1.6 農薬汚染河川に優占する水生昆虫3種の殺虫剤感受性評価 .....	20
2.1.7 農薬類複合汚染のカゲロウの成長・羽化に及ぼす影響評価 .....	20
2.1.8 農薬類の河川生物群集に及ぼす生態影響評価 .....	22
2.2 湖沼生態系に対する農薬の生態影響評価 .....	28
2.2.1 殺虫剤に対する感受性の種間差 .....	28
2.2.2 生物間相互作用に及ぼす殺虫剤影響 .....	29
2.2.3 プラクトン群集に及ぼす殺虫剤影響の実験水槽を用いた解析 .....	34
2.2.4 除草剤に対する藻類の感受性の種間差 .....	37
2.2.5 生物間相互作用に及ぼす除草剤の影響 .....	40
2.2.6 プラクトン群集に及ぼす除草剤影響の実験水槽を用いた解析 .....	41
2.3 まとめ .....	44
2.3.1 河川生態系における農薬類複合汚染の生態影響評価 .....	44
2.3.2 湖沼生態系に対する農薬の生態影響評価 .....	45
[資 料]	
I 研究の組織と研究課題の構成 .....	47
1 研究の組織 .....	49
2 研究課題と担当者 .....	49
II 研究成果発表一覧 .....	51
1 誌上発表 .....	51
2 口頭発表 .....	59

# 1 研究の目的と経緯

## 1.1 研究の目的

自然生態系は人間の生存や社会生活の快適性を支えるものであるが環境汚染や開発の影響に常にさらされている。近年ある面では化学物質の環境汚染は改善されつつあるが、社会・経済活動の質的量的拡大により汚染の実体は複雑多様化している。河川や湖沼は多種多様な化学物質で汚染される。しかし、それらの環境中での動態や生態系影響に関する知見は限られた範囲にとどまっている。化学物質の環境影響評価作業はOECDなどにより国際的な検討課題となっており既存の化学物質（HPVプロジェクトなど）や将来使用が予想される化学物質の生態系リスクアセスメントの研究が急務とされている。国内においても環境基本計画等、これまでもまして化学物質の生態系影響評価に関する研究が重視されている。

本研究では、国内外の生態系に対する化学物質の影響評価に関する認識と必要性の高まりの中で、以下のような課題を明らかにすることを主要な目的とした。

1) 河川や湖沼の水界は低濃度ながら様々な化学物質で汚染されるが、それらの濃度はそれぞれ独立に変動し、検出される物質も予測しがたい。しかし、生態系を構成する様々な水生生物に対する化学物質の慢性的、複合的な影響を評価するためには、このような化学物質の総合的な毒性とその原因物質を長期・連続的に明らかにしなければならない。本研究ではこれらを、感受性の高い水生生物を用いた生物試験から実施した。次の段階として生物試験で明らかにされた総合的毒性が生態系影響をいかに指標（反映）するかを明らかにすることも重要である。これらの目的のためには、様々な水生生物の化学物質に対する感受性の種間差のデータも必須とされた。

2) 化学物質の生態系影響評価には生物間の相互関係に基づく間接的で波及的な影響評価を明らかにしなければならない。なかでも生物間の餌をめぐる競争関係、食物連鎖を介した化学物質の生態影響などは、単独の水生生物を用いた試験では評価が困難なため本研究の重点目標の一つとした。同じ化学物質であっても、生態系の構造や化学物質の濃度、濃度の変動パターンなどで生態影響が大きく異なることが予想されるが、これらを実験生態系を用いて明らかにすることも主要な目的とした。また、生態系を作用機構が異なる化学物質で単独、ある

いは複合的に暴露した場合、生態系の反応が生物間相互作用によりいかに異なるかを明らかにすることも重要な研究テーマと考えた。

本研究ではこれらの成果や知見を総合して、化学物質の影響から水界生態系を保全するための施策に貢献することを目的とした。

## 1.2 研究の構成

本研究は以下の4つのサブテーマをもって行われたが、各テーマごとに研究の概要を以下に記す。

### (1) 生態系レベルにおける化学物質の相乗的影響に関する研究

農薬類の水生生物に対する暴露量を明らかにするため、河川・池沼の農薬類を高頻度で分析し、それらの濃度変動パターンを調べた。これら農薬類の潜在的生態影響の評価手法として、セテナストルム（緑藻）やヌカエビを用いた生物試験を行い、除草剤や殺虫剤が水生生物に及ぼす潜在的毒性の変動を調査・研究した。さらに、環境中に検出された各種農薬の生物試験データなどから、河川水中のセテナストルム増殖阻害やヌカエビの死亡がいかなる薬剤がどの程度関与して引き起こされるかを推定した。他の水生生物、実験生態系に対する農薬類複合汚染の影響も検討した。河川の生物群集に及ぼす農薬類の影響評価に関しては、水路を用いた実験や農薬類が流入する河川の生物調査などから総合的な調査・研究を行った。

### (2) 生物の化学物質に対する種特異的感受性に関する研究

環境中に高濃度、高頻度で検出される除草剤としてシメトリンを選び各地から単離培養された藻類株に対して生物試験を行い、薬剤感受性の種間差を検討した。実験生態系を高濃度の除草剤で暴露し続け、藻類群集の薬剤暴露に対する反応を研究し河川においても同様の現象が起こるかどうかの検討を行った。水生昆虫の殺虫剤に対する感受性の種間差を検討し、薬剤耐性のメカニズムについても検討した。農薬汚染河川に優占する水生昆虫の殺虫剤感受性の種間差とそれらの薬剤耐性機構等について調査・研究した。生息環境と薬剤耐性獲得との関連に



ついてユスリカとトビケラに関し野外調査を行った。ホタル、トンボ、タガメなど環境生物とよばれる水生生物に関しても、農薬類の影響試験を行い現在使用されている農薬のみならず、有機塩素系農薬類に対しては過去にさかのぼっての影響評価を行った。

### (3) 生物種間の相互作用に及ぼす化学物質の影響評価に関する研究

動植物プランクトン群集からなる実験生態系を屋外実験水槽に作製し、生物間の相互作用を介した化学物質の影響評価を行った。動物プランクトンやその捕食者間の生物間相互関係に基づく化学物質の2次的影響に関しては従前の成果に基づきさらに調査・研究を行った。ミジンコの捕食者（フサカや魚）の放出するカイロモンや殺虫剤、または両者の相乗的効果によりミジンコの形態変化や行動異常が起こるが、その結果動物プランクトンが

様々な生物間相互作用によりいかなる化学物質の間接的影響を受けるかについて検討した。

### (4) 生態系レベルでの化学物質のリスクアセスメントに関する研究

河川の生態系は農薬以外にも様々な要因で影響を受けるため農薬自体による影響評価は困難を伴う。そのため、対照として低農薬または無農薬水田地帯を流れる河川の生物群集を下流の農薬散布地帯のそれと比較し農薬類の生態影響評価を行った。さらに、農薬汚染の河川水を導入した人工水路を用いた調査からも、これらの生態影響評価に関する実験を行った。湖沼生態系に対する化学物質の影響評価に関しては、生態学の基礎的知見と様々な生物間相互作用に及ぼす化学物質の影響に関するデータに基づき総合的検討を行った。

## 2 研究の成果

研究目的の達成を計り、研究計画を前述の4課題として調査・研究を行ったが、それらの成果を目次に示すように、河川生態系と湖沼生態系に対する農薬類複合汚染の影響評価という取りまとめを行った。

河川と湖沼では環境（流水と止水）とそこに生息する生物の種類が大きく異なり、したがって調査・研究の手法も大きく異なったためである。

しかし、取り扱った生物が藻類から動物プランクトン、水生昆虫類、甲殻類など、食物連鎖系ではどちらかと言えば魚類の下位を構成する様々な生物が主体であることは河川と湖沼の両者に共通する点である。これらは言うまでもなく、食物連鎖系では魚類など上位の生物を支え、現存量が大きい上、様々な化学物質に対する感受性が魚類よりも高い。

### 2.1 河川生態系における農薬類複合汚染の生態影響評価

現在の農薬汚染レベルでは魚類の死亡など顕在的な影響の事例はめったに起こらないため、特別に調査・研究しない限り農薬類の生態系に及ぼす影響を明確に認識することはできない。例えば調査した10数河川の中で比較的農薬汚染が顕著であった河川でも約20種類の農薬類が検出されたが、検出された農薬類の毒性和環境中の濃度では魚類が急性致死的な影響を受けるとは考え難い。

国内では狭い農耕地に対し多種多様な農薬類が春から夏期にかけ集中的に使用され、その一部は河川や湖沼などに流入する。従来から松枯れ対策のため森林に殺虫剤が散布されてきたが、近年はゴルフ場にも様々な農薬類が散布され、山地の清流にも化学物質の汚染が危惧されている。分析技術の格段の進歩と、ごく一部とはいえ環境基準項目となった化学物質の測定義務などにより、環境中の化学物質の濃度についてはある程度のデータが集積されつつある。しかし、環境中における様々な化学物質が河川の生態系（または特定の生物）に及ぼす影響を及ぼすかについての知見は極めて乏しい。本課題では、実際の河川における農薬類複合汚染の状況を明らかにする一方、それらが河川の生態系に及ぼす影響を及ぼすかを評価するための調査・研究を行った。

#### 2.1.1 除草剤複合汚染の生態系影響評価

除草剤は水田除草のための苛酷な労働を不要にし、現在の日本の稲作事情のもとでは、その使用が必要不可欠な状況となっている。最近の除草剤の水生生物（魚類、動物プランクトン、水生昆虫、甲殻類、貝類など）に対する急性毒性は環境中の濃度では低いものであろう。しかし、除草剤は植物の成長を阻害するために開発された特別の化学物質であり、河川の生態系の基盤である藻類の成長（1次生産）を抑制する。本研究では、河川水中の除草剤が緑藻の1種であるセテナストルム (*Selenastrum capricornutum*) の増殖に対する影響を調べ、藻類生産に対する除草剤の複合影響を検討した。さらに除草剤によるセテナストルムの増殖阻害が河川の藻類生産に対する影響を指標（反映）するかどうかについても、河川水を導入した人工河川を用いて評価した。セテナストルムはOECDの生態影響試験法において、化学物質の1次生産に及ぼす影響を評価するための「藻類試験法」の供試生物として用いられている。また、国内では河川水の藻類増殖試験（AGP試験）の試験生物としても用いられている。

#### (1) 採水定点と除草剤の複合汚染によるセテナストルムの増殖阻害率の試験法

図1は本研究課題（セテナストルム試験、ヌカエビ生物試験など）のために設定された調査地点を示す。最も集中的に調査した小貝川は全長約110kmの中河川で、田園地帯を流下し利根川の下流部に合流している。桜川と恋瀬川も田園地帯を流下し霞ヶ浦に流入する2大河川である。小貝川の調査定点において、4月から8月まで週3回の頻度で、3本の三角フラスコ（500ml）に河川水（水面から約20cm）を採水し、農薬類の分析、セテナストルムの増殖試験とクロロフィルa濃度の測定、ヌカエビに対する毒性試験に用いた。

セテナストルム増殖試験用の河川水は、フィルター（0.22 $\mu$ m）を通して除菌した後、栄養塩（窒素、リン）を対照の藻類培養液（C培地）と同量（N；33mg/l、P；5.38mg/l）添加した。従って、セテナストルムは除草剤が存在しない河川水中では対照の培養液中と同等に増殖する。セテナストルムを初期濃度 $1 \times 10^4$ 細胞/mlで試験水に添加し、連続照明下で3日間培養すると



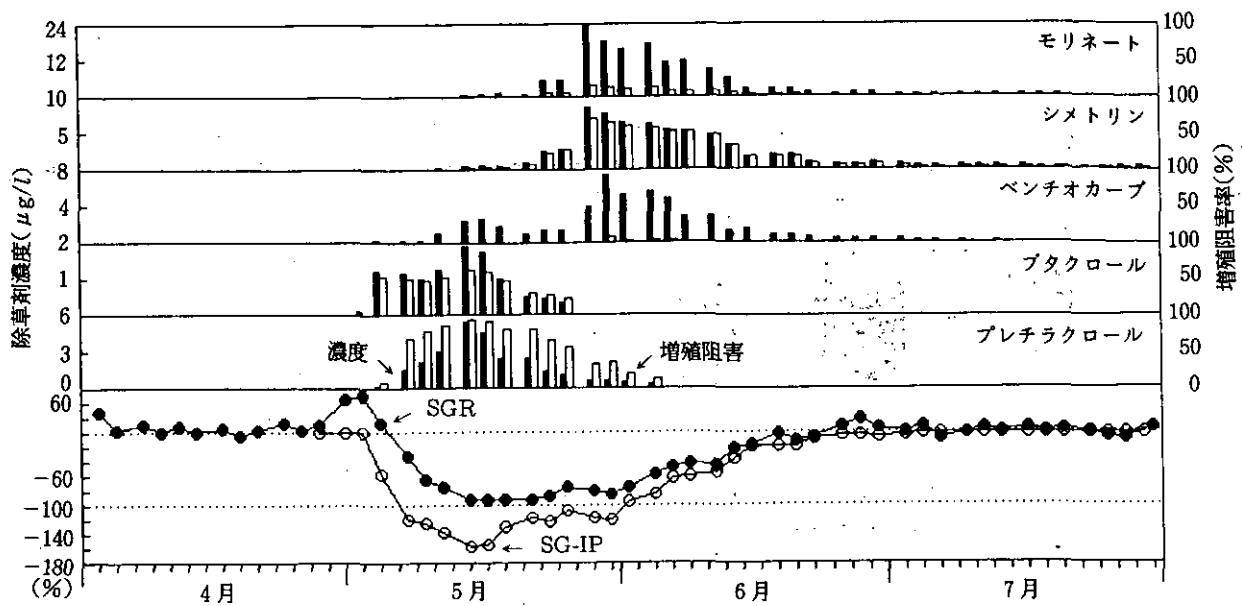


図2 小貝川定点の河川水サンプル中における4種除草剤濃度の変動(左), 及び各除草剤の水中濃度におけるセテナストルム増殖阻害率(右, プロビット法回帰式から算出), 下段; 河川中サンプル中でのセテナストルム増殖率(SGR)とその期待値(SG-IP, 各除草剤の増殖阻害率の相加値)の変動

135  $\mu\text{g/l}$ , シメトリン; 5.1  $\mu\text{g/l}$ , ベンチオカーブ; 17.3  $\mu\text{g/l}$ , ブタクロール; 1.1  $\mu\text{g/l}$ , プレチラクロール; 0.94  $\mu\text{g/l}$ と算出された。それぞれの除草剤によるセテナストルム増殖阻害率の和(通常, 相加的影響と称す)をセテナストルム増殖阻害ポテンシャル(SG-IP)として, 図2の下段に示した。実際の増殖阻害率(SGR)と5種の除草剤の相加的影響は極めて類似の変動パターンを示した。したがって, 5月中旬の河川水サンプル中でのセテナストルム増殖阻害の原因物質はブタクロールとプレチラクロールの相加的影響であり, 6月はモリネートとプレチラクロールの影響がやや認められ

るものの主要原因物質はシメトリンであった可能性が極めて高い。

実測値(SGR)と期待値(SG-IP)間のギャップの原因は, 1) 上記のようにSGRは-98%が限界であるが, SG-IPには制限がないこと, 2) 図3に示すようにセテナストルムの増殖阻害に対し, 除草剤間で拮抗的な影響が認められること, 3) 図2の5月始めに認められるように, 河川水中でセテナストルム増殖ポテンシャルが増加した場合, 除草剤の影響が見かけ上相殺されることなどが挙げられる。除草剤間の拮抗的影響の事例として, 例えば5月上旬にブタクロールとプレチラクロールの相

表1 調査河川で検出された除草剤のセテナストルムの増殖に及ぼす用量( $\mu\text{g/l}$ )と反応(P; 3日後の増殖阻害率)回帰式(試験は藻類の培地(C-medium)中で行い, Pはプロビット値)

除草剤	用量~反応回帰式	3日後50%増殖阻害濃度 ( $\mu\text{g/l}$ )
モリネート	$P = -1.305 \times \log C + 7.782$	135.46
シメトリン	$P = -2.078 \times \log C + 6.472$	5.11
ベンチオカーブ	$P = -4.059 \times \log C + 10.029$	17.34
ブタクロール	$P = -1.357 \times \log C + 5.085$	1.16
プレチラクロール	$P = -2.011 \times \log C + 4.942$	0.94
クロロニトロフェン	$P = -3.492 \times \log C + 8.464$	9.82
メフェナセット	$P = -1.695 \times \log C + 7.952$	55.16

C; 除草剤濃度 ( $\mu\text{g/l}$ )

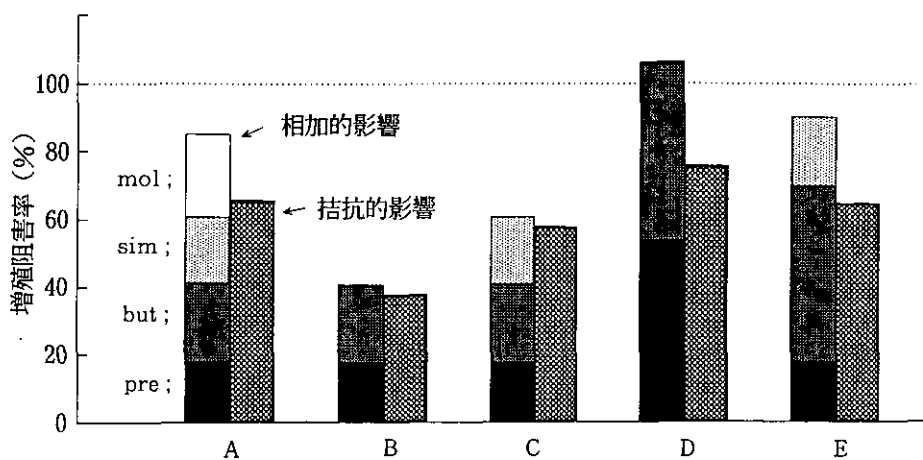


図3 セレナストルム（緑藻）の増殖に対する4種の除草剤の拮抗的影響  
 左側；相加的影響，右側；複合影響（2～4種混合），mol；モリネート，  
 sim；シメトリン，but；ブタクロール，pre；プレチラクロール

加的影響（SG-IP）が100%をやや超えているとき（図2），実際の増殖阻害は80～90%であった。一方，各種除草剤の複合影響を検討した試験において，ブタクロールとプレチラクロール間の相加的影響が100%をやや超えている場合，両者の複合影響として約80%の増殖阻害率にとどまり（図3），双方の場合とも実測値と期待値に数十%の拮抗作用が認められる。

他の調査河川（図1；鬼怒川，西谷田川，花室川，桜川，恋瀬川）でも5月中旬に河川水サンプル中でセレナストルムの増殖が著しく阻害された。

セレナストルムの除草剤シメトリンに対する感受性を増殖半阻害濃度（ $EC_{50}$ 値）で表し，これまで調べられている他の藻類の値と比較すると，特に耐性のあるものを除外するとセレナストルムの感受性は中程度の値であった（図33）。したがって，河川水中の除草剤によりセラナストルムの増殖が著しく抑制される時期には，河川の藻類生産も何らかの影響を受けることが充分予測された。

### （3）除草剤複合汚染の藻類生産に及ぼす影響評価

水路（長さ4m，幅0.4m，塩化ビニール板製）に小貝川の河川水を連続的に流し，藻類生産に影響を及ぼす物理的条件（光，流速，水深など）を一定にして，水路内に設置した人工基物（素焼きタイル，11cm×6cm）の表面に発生する藻類量やそれらの種組成から除草剤複合汚染の藻類生産に及ぼす影響を評価した。

1992年の実験でも確かにセレナストルムが著しい増殖阻害を受ける時期（5月中旬）には藻類（付着藻）生産も抑制されることを示す実験結果が得られたが，6月

中旬から藻類を摂食するサカマキ貝，コガタシマトビケラ，ユスリカ，コカゲロウなどの底生生物が水路内に侵入し，藻類生産が回復する時期に藻類を摂食したため除草剤の藻類生産に及ぼす影響評価を困難にした。

したがって，1993年にはタイル上の藻類のサンプリング（週2回）の直後に，水路の内壁に発生した藻類や上記の水生物をスポンジたわしで洗い流し，タイル上の藻類を摂食する水生生物の影響を極力なくす操作を加えた。

1993年も河川水中におけるセレナストルムの増殖は，5月中旬にブタクロールとプレチラクロールの相加的影響により著しく阻害されたが，1991年に見られた6月中のシメトリンの影響（図2）は軽微であり，6月上旬のセレナストルムの増殖阻害は約5種類の除草剤の相加的影響によることが示された（図4）。これはシメトリンの使用が最近劇的に減少したことを反映している。

人工河川に3日間設置したタイルの表面上に発生した藻類量（クロロフィルa）は，セレナストルムの増殖が著しく抑制された時期（5月中旬～下旬）には他の時期の約50%前後の値に減少した（図4， $a \times 2 = b$ ）。

これらの結果に加え，1）5月中旬でも河川水から除草剤を除去するとセレナストルムの増殖は完全に回復する，2）河川の栄養塩は5月中旬でも減少しない，3）人工河川では水路の光条件（人工連続光），水深，流速等は一定であった，4）水路に設けた暗黒区内ではタイル上に発生する藻類量は少なく，明区における藻類生産は水中藻類の単なる沈着ではない，などの理由から5月中旬に認められた約50%前後の藻類生産の減少は除草

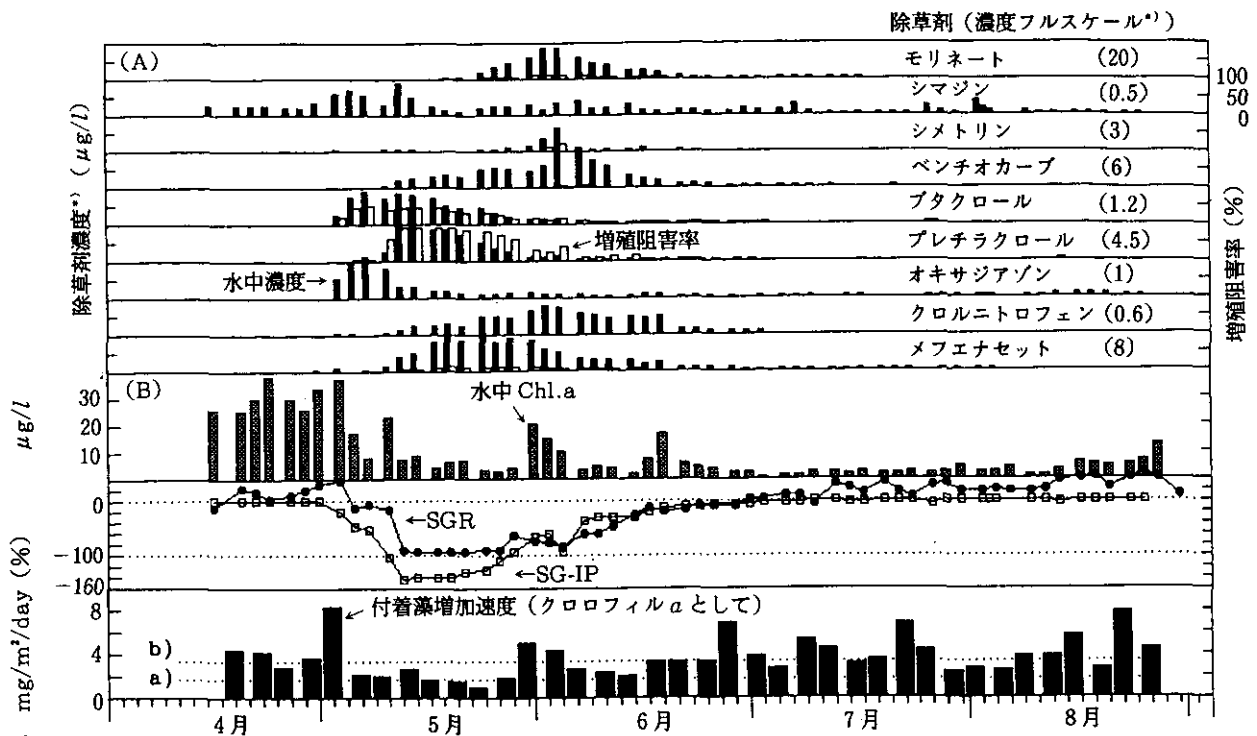


図4 (A) : 河川水 (小貝川) 中の各種除草剤濃度とそれら濃度におけるセテナストルム増殖阻害率の変動, (B) : 1) 河川水中のクロロフィル-a 濃度, 2) 河川水サンプル中でのセテナストルム増殖阻害率の実測値 (SGR) と期待値 (SG-IP, 各種除草剤の阻害率の相加値), 及び 3) 人工基物上の藻類成長速度 (水路内, 連続人工照明条件下, 基物設置3日後に測定)

剤の相加的影響によるものと考えられた。

これらの結果はセテナストルム生物試験により除草剤複合汚染の藻類生産に及ぼす影響がある程度モニターできることを示している。5月中旬における藻類生産の減少時期でも藻類の種類数に減少は認められず、それぞれの優占種とも増殖速度に減少が認められた。

#### (4) 大川における除草剤濃度とセテナストルム増殖阻害ポテンシャル

北上川の下流域の定点 (宮城県, 登米町) における各種農薬類の濃度を図5に示した。農薬濃度はモリネートを除きすべて1 μg/l以下と小貝川 (図2, 8) よりかなり低い値を示したが, 薬剤の検出期間はフェノブカルブの3カ月以上をはじめとして長期間に及んだ。北上川でも5月中旬から下旬にかけブタクロールとプレチラクロールの相加影響により, セテナストルムの増殖に対するSG-IPは50%前後となり河川水中のクロロフィルa濃度にも減少が認められたが, SGR値に顕著な変化は認められなかった。これは5月に河川水中の藻類増殖ポテンシャルが上がり除草剤の影響が見かけ上, 相殺されたためと考えられる。

藻類生産に及ぼす除草剤の影響は調査河川では5月中

旬をピークとし6月下旬までにはほとんど回復する一過性なものであった。しかし, 春から初夏にかけては様々な生物が生まれ成長する重要な時期である。藻類生産の1次的かく乱 (藻類量の減少・餌としての汚染) が食物連鎖網を通し, 生態系にいかなる波及的な影響と後遺症を残すかなどに関しては, 今後さらに検討を要する。

#### 2.1.2 殺虫剤を主体とする農薬類複合汚染の生態影響評価

殺虫剤を主体とする農薬類の水生生物に及ぼす潜在的影響の評価には淡水産のエビの1種, ヌカエビ (*Paratya compressa improvisa*) を用いた。試験法自体は簡便であるが高い頻度で決まった日齢 (生後4週間を使用) の稚エビが供給可能な飼育体制を確立する必要がある。ヌカエビは, かつては八郎潟周辺や印旛沼などで多量に繁殖し, むしろに干し簡単に乾燥化できるため内陸部の重要なタンパク源として経済的にも重要な物産であったことが記載されている。また, 地元住人によると小貝川の調査地点周辺でもヌカエビと思われる藻エビは豊富に生息していたらしい。生態的にはもっぱら底質表面上の有機物を摂食し, それ自身は魚類など様々な水生生物の被食者として食物連鎖系でも重要な位置を占め

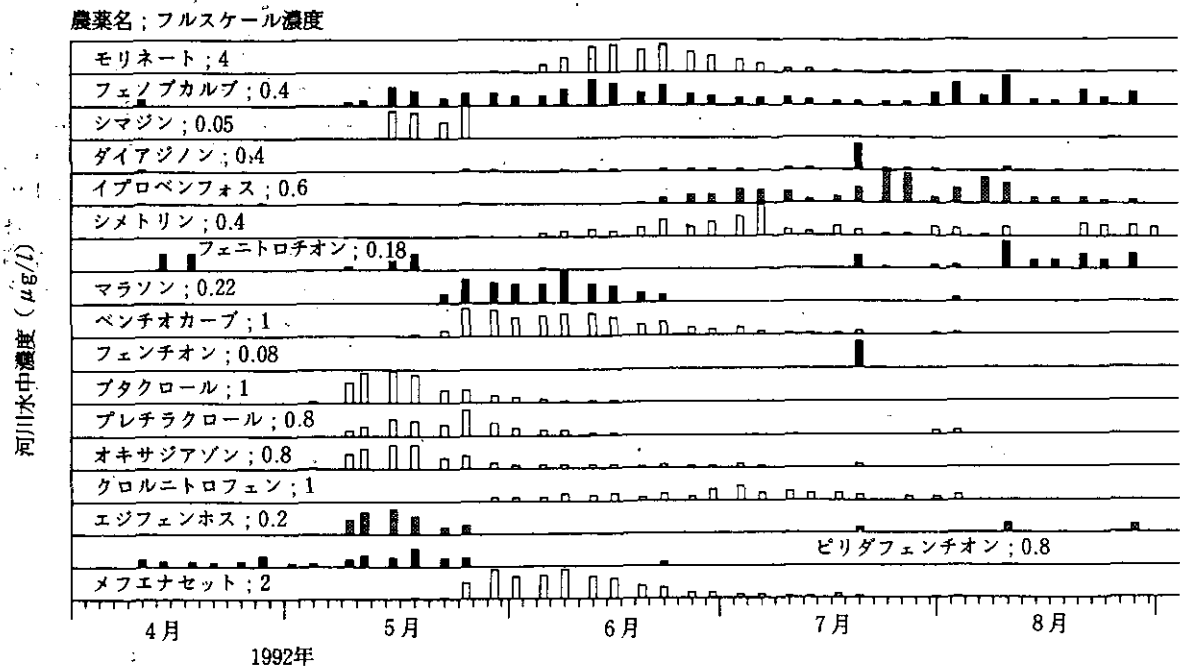


図5 北上川の下流部（宮城県，登米町）定点における各種農薬類の濃度変化  
（1992年，週2回の頻度で分析）

ていたはずであるが，現在は化学物質の汚染が低い水域にのみわずかに生息している。

#### （1）河川水中の総合毒性を評価するヌカエビの生物試験法

つくば市周辺の河川水を4月から8月にかけて，定期的に（週3回）採水し，100 mlのビーカー3ヶに分注し1ビーカー当たり生後4週間のヌカエビを7個体入れ，その後の行動異常，生死を1～4日後までは毎日，その後は1週間後，2週間後に観察し記録した（1989年は4日後まで）。4日後と1週後には，1ビーカー当たり魚の人工飼料（日配，4C，DX）1粒を与えて試験中にヌカエビが飢餓状態にならないように配慮した。

#### （2）河川水中でのヌカエビ死亡率の変動

1989年につくば市及びその周辺の河川から採水した河川水中におけるヌカエビ死亡率の変動を示す（図6）。

西谷田川，東谷田川，花室川等は水田地帯を流下する小河川であり小貝川，桜川，恋瀬川は全長数10 kmから100 km前後の典型的な中河川である（図1）。調査前は当然ながら中河川よりも小河川の河川水で高い死亡率が起こると予測されたが，結果はむしろ逆で中河川の方がヌカエビの顕著な死亡率が認められた。しかし，大河川である鬼怒川下流域から採水した河川水中の死亡率

は比較的低いレベルにとどまった（図6）。6月中旬の小貝川河川水など，ヌカエビに対する毒性が顕著であった場合でも，疎水性化学物質を捕集するカラム（Bond Elut，C18）を通して農薬類を除去するとヌカエビの死亡は完全に見られなくなった。また，農薬類がほとんど消失する9月から翌年の3月までは（週1回調査）ヌカエビの死亡率はゼロか，まれにあっては10%以下であった。これらの結果からつくば市周辺の10数河川で春～夏期に認められたヌカエビの顕著な死亡率の増大は農薬類の単独，または複合汚染が主因であったと推測された。

#### （3）調査河川におけるヌカエビ死亡率の経年変化

1989年の調査において，小貝川の毒性が最も顕著であったので1993年までヌカエビ毒性の経年的変化（図7）と死亡の原因物質を検討した。1990年以降は試験期間を4日から14日まで延長したが，1990年6月中旬のように4日後では認めれない毒性が7，または14日後の死亡率として顕著に認められた。殺虫剤の総合毒性は経年的にやや減少の傾向を示した。

いずれの年も，5月下旬からヌカエビの死亡率が増大し始め6月上旬にピークとなり，その後中旬にかけ高死亡率は減少した。1989年の場合，5月下旬と6月中旬の死亡率の急速な増大と減少はそれぞれ降雨による河川

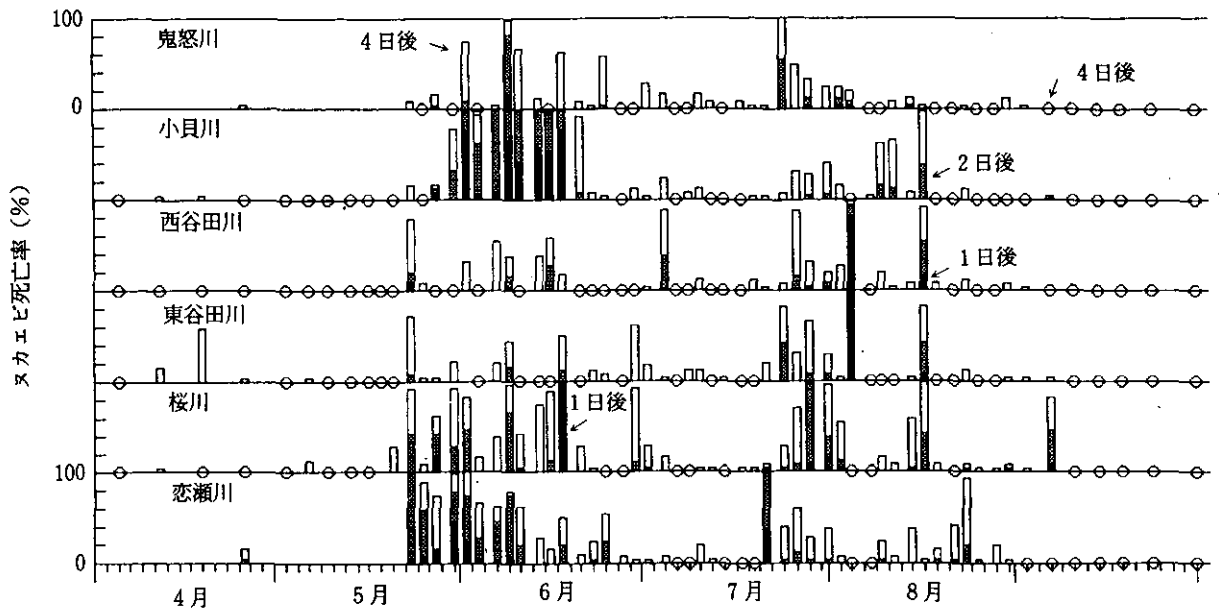


図6 つくば市及びその周辺の6河川(図1)から採取した河川水中におけるヌカエビ死亡率の季節的変動(1989年)

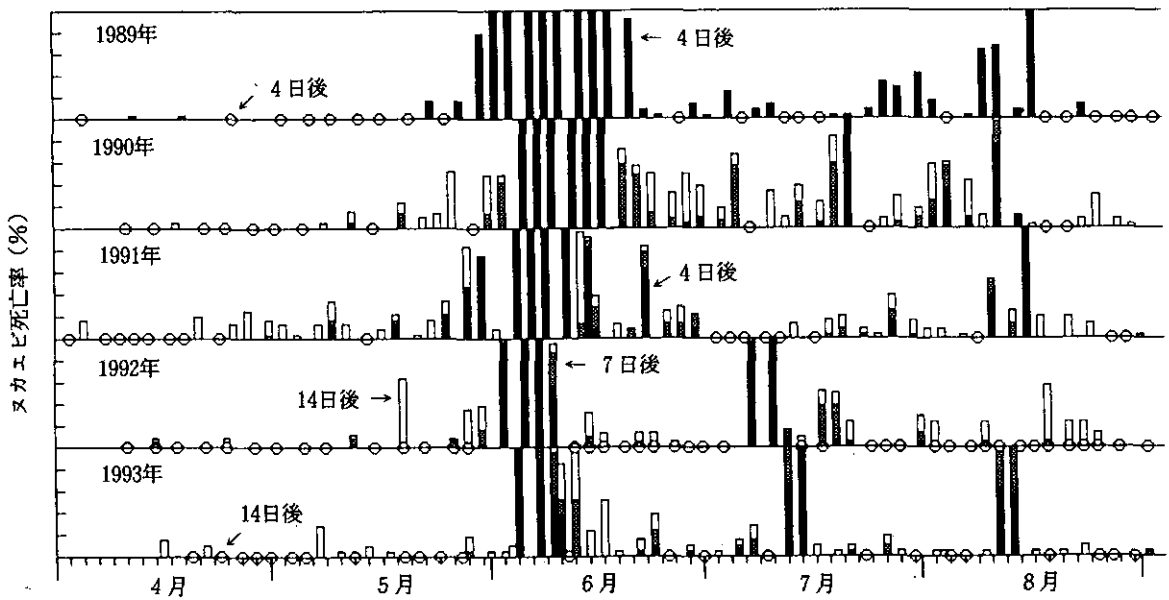


図7 小貝川(図1, 下流定点)の河川水サンプル中におけるヌカエビ(生後4週間)死亡率の経年的変化(1989~1993年), 1989年は河川水導入の4日後まで, 1990年以後は7日, 14日後にも死亡率算出

水の流量の増加に伴っていた(図7)。晴天後の適度の降雨が農耕地から河川への農薬類流入をもたらし、6月中旬は希釈効果をもたらしたためと考えられる。7~8月の間欠的な死亡率の増大はいずれの年も殺虫剤の空中散布によるものと考えられ、それら高死亡率の急速な減少は大雨で河川が増水し河川水中の殺虫剤濃度が希釈さ

れたためと考えられる。小貝川の場合でも農薬類が河川に流入する直前の4月や河川水中の農薬濃度が低下、または不検出となる9月以降はヌカエビ死亡率は14日後でもゼロ、またはまれに死亡があっても20%以下の死亡率にとどまった。



(4) 河川水中でのヌカエビ死亡率の原因物質

これら死亡率の原因物質を検討するため、検出された殺虫剤に関しヌカエビ生物試験を行い用量～反応(死亡率, プロビット値として)の回帰式を得た(表2:行番号:960~1020)。河川水中の農薬濃度, プロビット回帰式, 河川水中の各濃度(～830)におけるプロビット値(行番号:960~1020)とそれらの%死亡率への変換(行番号:1040~1100), 各殺虫剤による死亡率の積算値(相加死亡率, 行番号:1190), 河川水中での実際の死亡率(4日後, 表2から省略)等を図示するプログラム(表2)から, 河川水中での実際の死亡率と相加死亡率(期待値)の変動を図8に示した(1991年の場合)。図から, 6月上旬のヌカエビ死亡率の増大は主として有機リン系殺虫剤ピリダフェンチオンによると考えられ, ついでマラソンと短期間ではあるがフェノブカルブによる複合汚染による可能性が極めて強い。6月4日では, ピリダフェンチオンのみで100%の死亡率をもたらし, そ

れにフェノブカルブとマラソンの死亡率を積算(相加)

すると220%の死亡率となり, この河川水では2倍に希釈しても100%の死亡率になったと考えられる。

8月中旬の死亡率はその時期に水田に空中散布されたダイアジノンが主因と考えられるが(図8), 実際の死亡率は期待値(相加影響)よりも高くさらに他の化学物質の相乗効果か, 未検出の毒性物質が影響した可能性も考えられる。

1989～1993年を通して調査期間中のヌカエビ死亡の原因物質は殺虫剤の分析結果と生物試験から, ピリダフェンチオン('89, '90は未測定), フェノブカルブ, マラソン, ダイアジノン, フェニトロチオンなどの殺虫剤の単独, またはこれら殺虫剤の相加的・相乗的影響に起因した可能性が極めて高い。

(5) 殺虫剤の相加的, および相乗的効果に基づくヌカエビ死亡率の原因物質の検討

表2 河川水中に検出された殺虫剤濃度(行番号:100~830)とそれら薬剤の用量～反応(死亡)回帰式(960~1020), 各種薬剤濃度における死亡率(4日後, 1040~1100)～各薬剤の相加死亡率(1190)を算出するプログラム

```

820 DATA 137,0.130,1.175,0.080,1.999,0.951,0.213,0.039,0.274,0.052,0,0,0.338,0
,0,1.599,0
830 DATA 140,0.123,0.198,0.035,0.916,0.419,0.194,0.029,0.084,0.041,0,0,0.374,0
,0,0.125,0, -1
840 REM ----- (32/numeral); full scale of each pesticide (ppb)-----
850 READ R: IF R=-1 THEN 1220 ELSE READ A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P
860 S= 10 + 4*R : REM days from 1st April
870 LINE (S , 42)-(S-3, 42 - (32/12)*B ),6,B : REM fenobucarb (BPMC)
880 LINE (S , 74)-(S-3, 74 - (32/ 2)*D ),4,B : REM diazinon (dia.)
890 LINE (S ,106)-(S-3,106 - (32/ 4)*E ),6,B : REM iprobenphos (IBP)
900 LINE (S ,138)-(S-3,138 - (32/.3)*G ),6,B : REM fenitrothion (MEP)
910 LINE (S ,170)-(S-3,170 - (32/5 )*H ),2,B : REM malathion (mal.)
920 LINE (S ,202)-(S-3,202 - (32/.1)*J ),3,B : REM fenthion (MPP)
930 LINE (S ,234)-(S-3,234 - (32/1.6)*O ),5,B : REM EDDP
940 LINE (S ,266)-(S-3,266 - (32/12)*P ),6,B : REM pyridaphenthion (pyr.)
950 REM ----- Probit -----
960 P1= 2.598*(LOG (B+1E-08)/(2.30258)) + 3.174 : REM BPMC
970 P2= 4.948*(LOG (D+1E-08)/(2.30258)) + 3.185 : REM dia.
980 P4= 3.892*(LOG (G+1E-08)/(2.30258)) + 6.727 : REM MEP
990 P5= 5.962*(LOG (H+1E-08)/(2.30258)) + 1.655 : REM mal.
1000 P6= 5.618*(LOG (J+1E-08)/(2.30258)) + 7.236 : REM MPP
1010 P7= 3.892*(LOG (O+1E-08)/(2.30258)) + 6.727 : REM EDDP
1020 P8= 3.193*(LOG (P+1E-08)/(2.30258)) + 3.682 : REM pyr.
1030 REM ----- Probit -----> % mortality -----
1040 M1= 1/((.01012+ 70.2 * ( 5.82)^( -P1)) + 1.2 : REM BPMC
1050 M2= 1/((.01012+ 70.2 * ( 5.82)^( -P2)) + 1.2 : REM dia.
1060 M4= 1/((.01012+ 70.2 * ( 5.82)^( -P4)) + 1.2 : REM MEP
1070 M5= 1/((.01012+ 70.2 * ( 5.82)^( -P5)) + 1.2 : REM mal.
1080 M6= 1/((.01012+ 70.2 * ( 5.82)^( -P6)) + 1.2 : REM MPP
1090 M7= 1/((.01012+ 70.2 * ( 5.82)^( -P7)) + 1.2 : REM EDDP
1100 M8= 1/((.01012+ 70.2 * ( 5.82)^( -P8)) + 1.2 : REM pyr.
1110 REM ----- (% mortality at each concs. -----
1120 LINE (S , 42)-(S+3, 42 - .32 *M1 ),6,BF: REM fenobucarb
1130 LINE (S , 74)-(S+3, 74 - .32 *M2 ),4,BF: REM diazinon
1140 LINE (S ,138)-(S+3,138 - .32 *M4 ),6,BF: REM fenitrothion
1150 LINE (S ,170)-(S+3,170 - .32 *M5 ),2,BF: REM malathion
1160 LINE (S ,202)-(S+3,202 - .32 *M6 ),3,BF: REM fenthion
1170 LINE (S ,234)-(S+3,234 - .32 *M7 ),5,BF: REM EDDP
1180 LINE (S ,266)-(S+3,266 - .32 *M8 ),6,BF: REM pyridaphenthion
1190 Z= M1+ M2+ M4+ M5+ M6+ M7+ M8 : REM additive mortality
1200 LINE (S, 330 )-(S+3, 330-Z*.32),6,BF
1210 GOTO 850
1220 REM -----

```

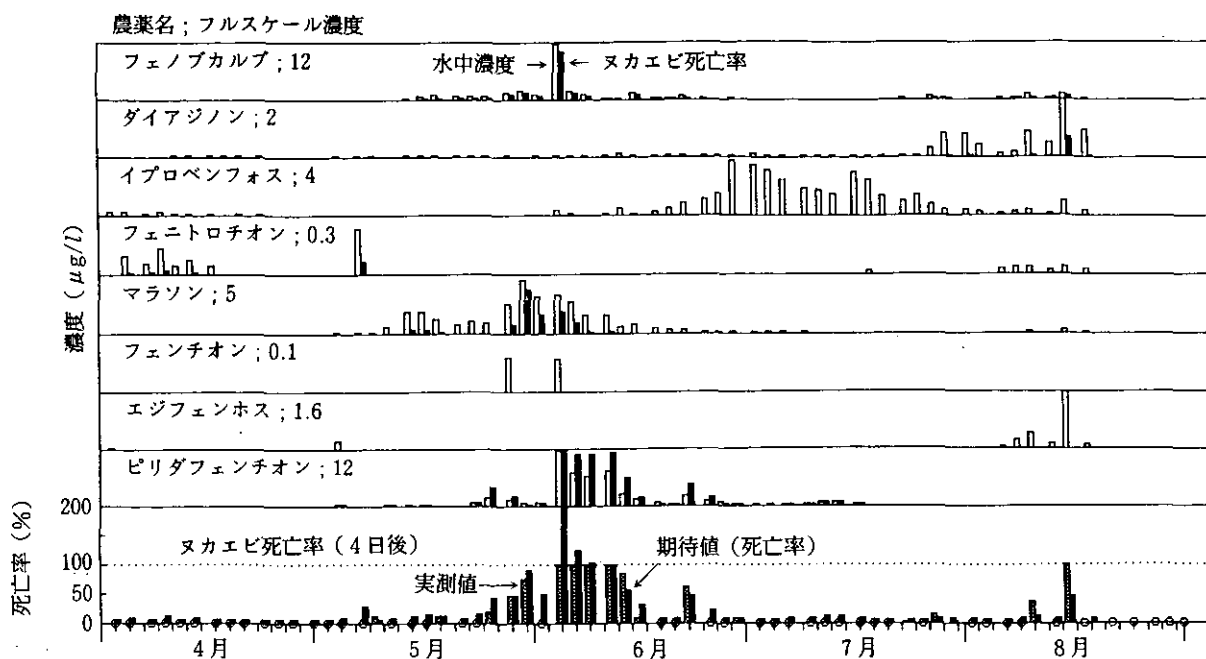


図8 小貝川河川水サンプル中でのヌカエビ死亡率（下段；左）の変動，及び各殺虫剤の検出濃度におけるヌカエビ死亡率（生物試験による）とその積算値（下段右；相加的死亡率の計算プログラム（表2，行番号1190）による）

桜川（'89年）では実際の死亡率と期待値（相加的死亡率）の間にはかなりのギャップがあったため，検出された殺虫剤間で相乗効果を検討した。そのなかで，環境中に検出される低濃度のフェノブカルブ（1～数 $\mu\text{g/l}$ ）とフェニトロチオン（1 $\mu\text{g/l}$ 以下）の間に，ヌカエビ死亡に関し相乗効果があることが分かった（図9）。図で明らかのように，低濃度のフェニトロチオンに1，2，4 $\mu\text{g/l}$ のフェノブカルブを添加するとヌカエビの死亡率（4日後）はフェノブカルブの濃度に依存して著

しく増大した。したがって，用量（フェニトロチオン）～反応（P；プロビット死亡率）の回帰式（図9中に示す）の傾き（b）と切片（a）の定数を，フェノブカルブ濃度（C）の関数として（図10）次の回帰式を求めた；従って

$$a = 6.297 \times (1 + \text{EXP}(0.267 \times C - 1.818))$$

$$b = 3.336 \times (1 + \text{EXP}(-0.434 \times C - 1.065))$$

$$P = b \times \text{Log}(M) + a \quad (M; \text{フェニトロチオン濃度})$$

の3式を殺虫剤の相加的影響（ダイアジノン+マラ

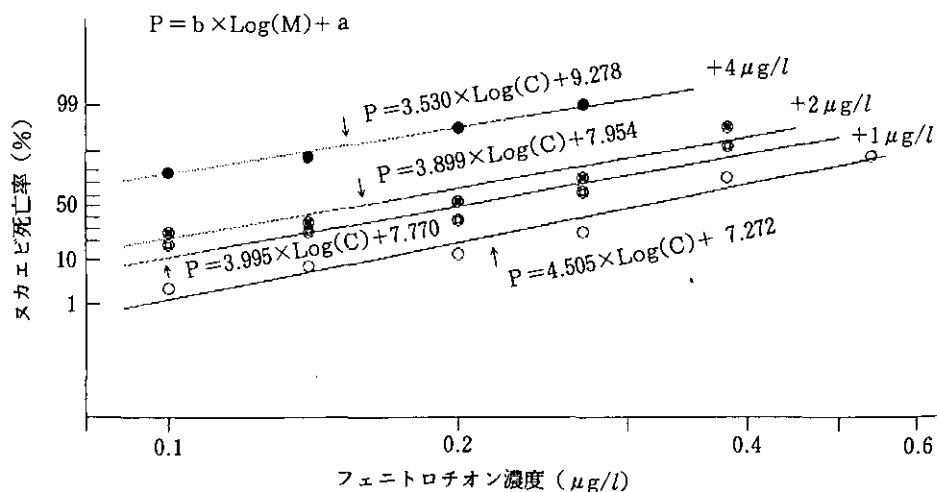


図9 フェニトロチオンによるヌカエビ死亡率（4日後）に対する低濃度のフェノブカルブ（カーバメイト系殺虫剤）の相乗効果（1，2，4 $\mu\text{g/l}$ のフェノブカルブを添加）

ソシ+フェンチオン) +相乘的影響(フェンチオンとフェノブカルブ間)を求めるプログラム(表3)に適用した(行番号: 690~720, 行番号: 650は相加影響)。さらに「フェニトロチオンと殺菌剤のイプロベンフォスの間にも相乘効果が認められた。表3ではイプロベンホスが10

μg/lのときにプロビット回帰式(行番号: 780, LC<sub>50</sub>値; 0.19 μg/l)で代表し, イプロベンホス濃度が6 μg/l以上のとき(行番号: 780~810)に相乘効果による死亡率を計算した。これらの相乘効果を加味すると, 死亡率の期待値は実際の死亡率にかなり近づく結果となっ

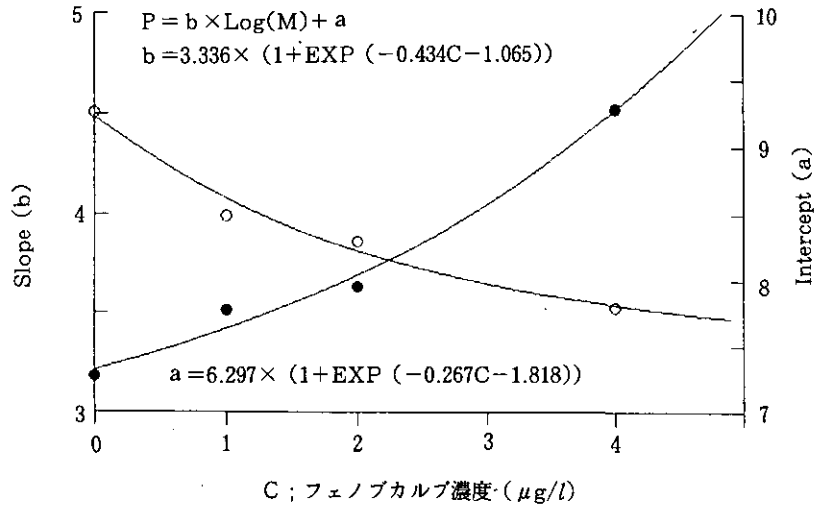


図10 スカエビ死亡率(Probit, 4日後)~フェニトロチオン濃度(C)の回帰式( $P = b \times \text{Log}(C) + a$ )の定数とフェノブカルブ濃度の関係

表3 河川水中でのスカエビ死亡率(4日後)を数種の殺虫剤の相加死亡率とフェニトロチオンとフェノブカルブの相乘的死亡率から算定(行番号: 860)するためのプログラム, フェニトロチオンとイプロベンフォスの相乘効果(行番号: 840~)はイプロベンフォス10 μg/lのときの回帰式

```

550 REM----- % mortality at concs. detected in water samples -----
560 LINE (N, 48)-(N+4, 48-.38* W1),5,B : REM max 0.4, fenitrothion (MEP)
570 LINE (N, 86)-(N+4, 86-.38* W2),5,B : REM max 1.4, fenthion (MPP)
580 LINE (N,124)-(N+4,124-.38* W3),5,B : REM max 6, malathion (mal.)
590 LINE (N,162)-(N+4,162-.38* W4),5,B : REM max 1.8, diazinon (dai.)
610 LINE (N,200)-(N+4,200-.38* W5),5,B : REM max 3.5, fenobucarb (BPMC)
630 LINE (N-2,238)-(N+2,238-(45/18)*D),5,B : REM max 18, iprobenphos (IBP)
650 Z= W1+ W2+ W3+W4+W5 -2
660 LINE (N,318)-(N+4, 318-Z*.8),5,B
670 PAINT (N+ 1.5 , 318-Z*.8*.5),T2$,5
680 REM ----- synergistic effect of BPMC on MEP-effect-----
690 B1= 3.336* (1+ EXP(-.4341*B-1.065)): REM slope
700 A1= 6.297* (1+ EXP( .2672*B-1.818)): REM intercept
710 Q1= B1*(LOG (F+1E-08)/(2.30258))+A1: REM MEP*BPMC synergistic effect
720 Z1= 1/(.01012+ 70.2 * (5.82)^(-Q1)) +1.2: REM probit-->% mortality
730 Y1= W2+W3+W4 +Z1 : REM (MPP+mal.+dai.)+ (MEP*BPMC)
740 LINE (N, 48)-(N+4, 48-.38*Z1),5,B: REM (MEP*BPMC)
750 LINE (N,318)-(N+4,318-.8 *Y1),5,B
760 GOTO 350
770 REM ----- IBP X MEP synergistic effect -----
780 DATA 92,2.2,.2,.08,6.2,1.2,0,.65,0,0,0,0,0
790 DATA 95,1.8,.16,.092,6.13,.87,.17,.31,0,.051,0,0,0, 97,1.3,.12,.09,9.3,.73
,0,.35,0,0,0,0,0, 101,.72,.13,.13,6.5,.73,0,.28,0,0,0,0,0
800 DATA 108,.71,.08,.21,7.4,.69,.02,.19,0,0,0,0,.17
810 DATA 117,.54,.2,.78,17.8,.71,.2,.025,0,.12,0,0,0,. 119,.82,.29,1.61,10.2,.
99,.15,.03,0,.18,0,0,0, 122,.54,.15,.7,10,.63,0,0,0,.4,0,0,0, 124,.38,.13,.59
,.8,8,.35,.17,0,0,.15,0,0,0, -1
820 READ S:IF S=-1 THEN 900 ELSE READ A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K,L
830 N=10+3.4 *S
840 Q2= 2.71*(LOG (F+1E-08)/(2.30258))+6.95: REM MEP*IBP synergistic effect
850 Z2= 1/(.01012+ 70.2 * (5.82)^(-Q2)) +1.2: REM probit--> percent
860 Y2= W2+W3+W4 +Z2
870 LINE (N, 48)-(N+4, 48-.38*Z2),5,B: REM [MEP*BPMC]
880 LINE (N,318)-(N+4,318-.8 *Y2),5,B: REM Toat1+ Synergistic effct.
890 GOTO 820
900 REM ----- 4-d shrimp mortality in water samples -----

```

た(図11, 下段)。

(6) 河川の上流から下流, 及び河口におけるヌカエビ死亡率の変動

恋瀬川は霞ヶ浦に流入する河川では桜川に次いで流量の大きい河川である。その上流, 中流, 下流(河口から6 km, 図1), 及び河口から約500 m沖で表層水を採取しヌカエビの生物試験を行った(図12, 採水は5月下旬から開始)。5月の下旬から6月中旬の間は, 上流から下流まで河川水の毒性は顕著に増大していたが(7月以降は上, 中流は試験を中止), 9月以降はヌカエビ死亡は認められなくなった。この河川でもヌカエビ死亡の原因物質は農薬類の分析結果から, 上記数種類の殺虫剤が主因と考えられた。恋瀬川下流(図1, St.3)と河口から500 m沖(図1, A)の霞ヶ浦湖水中のヌカエビ死亡率(試験期間を7日まで延長)の変動パターンを経時的に比較検討すると, 河口に流出した毒性物質は拡散して希釈されるにしても約10日前後遅れて500 m沖に到達したものと考えられる(図12; a→b/'a→'b, c→d/'c→'d, e→f/'e→'f)。高浜入りでは他の3カ所(図1, B, C, D)の採水地点においても恋瀬川河口程ではないが, 夏期の1カ月間にわたりヌカエビ死亡率(7日後)が10~40%の値で変動した。ヌカエビの死亡率は14

日後はさらに増大するので(図8), このような環境はヌカエビと感受性が同等, またはそれ以上の水生生物にとっても安定した生息が困難な環境であったと考えられる。

(7) 大河川の河川水におけるヌカエビ生物試験

北上川定点の河川水サンプル中でも4月から8月にかけて(1992年, 週2回試験)試験を行ったが, 7日後までの死亡率は0%, 14日後でも10~30%の死亡率が数回認められただけであった。殺虫剤の濃度が最高でもピリダフェンチオンの0.4 μg/l, フェノバルブの0.3 μg/l以下と比較的低かったためと考えられる。しかし, フェノバルブなどは低濃度ながらそれらの検出期間は3カ月にも及び(図5), 高感受性の水生生物への慢性的影響(繁殖, 行動異常)を検討する必要がある。

例えば, 図5に見られるような17種類の農薬類の濃度を毎日水槽の水を交換しながら再現したヌカエビへの慢性影響試験(採水日の間の濃度は, 前後の濃度から計算)では暴露38日後(5月18日に相当)から数日間, 通常は水槽の底や隅に潜むヌカエビがふらふらと泳ぎだす行動異常を起こした。水生生物は食物連鎖系の中で魚の捕食を逃れるための様々な戦略(隠れる, すばやく逃げるなど)をとっているが行動の異常は魚の過剰な捕食

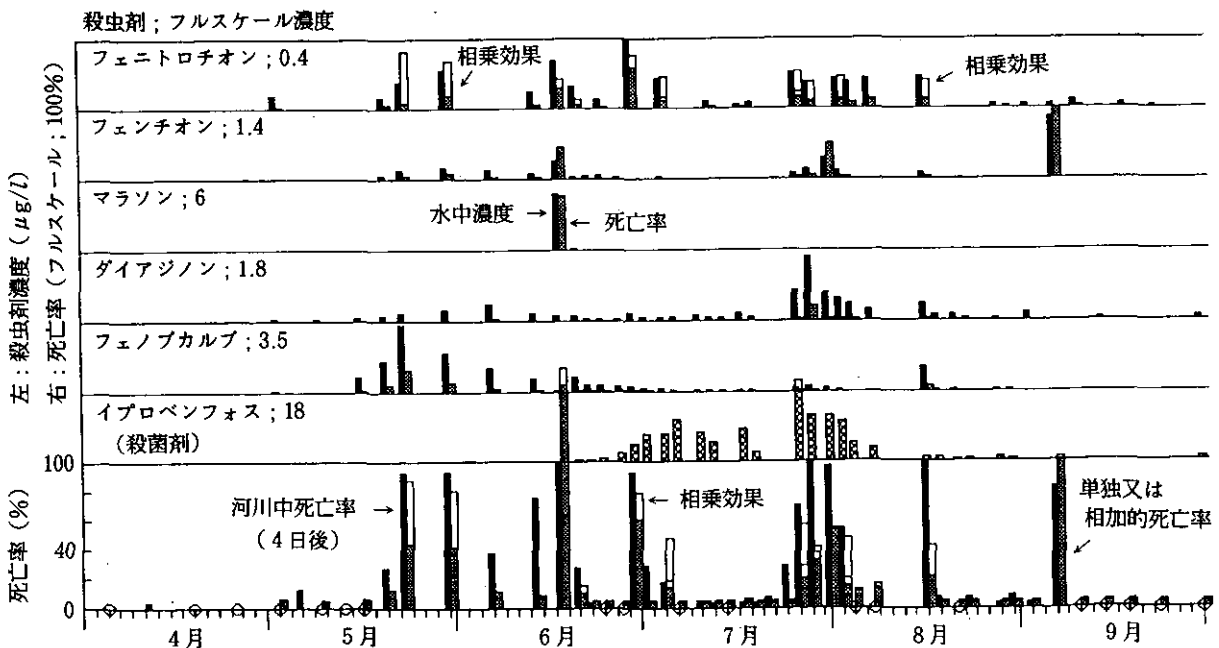


図11 桜川河川水中でのヌカエビ死亡率(1989年)と河川水中で検出された殺虫剤の相加的及び相乗的な死亡率の積算値(死亡率期待値)との関係(図10の a, b を採用したプログラム(表3)から算出)

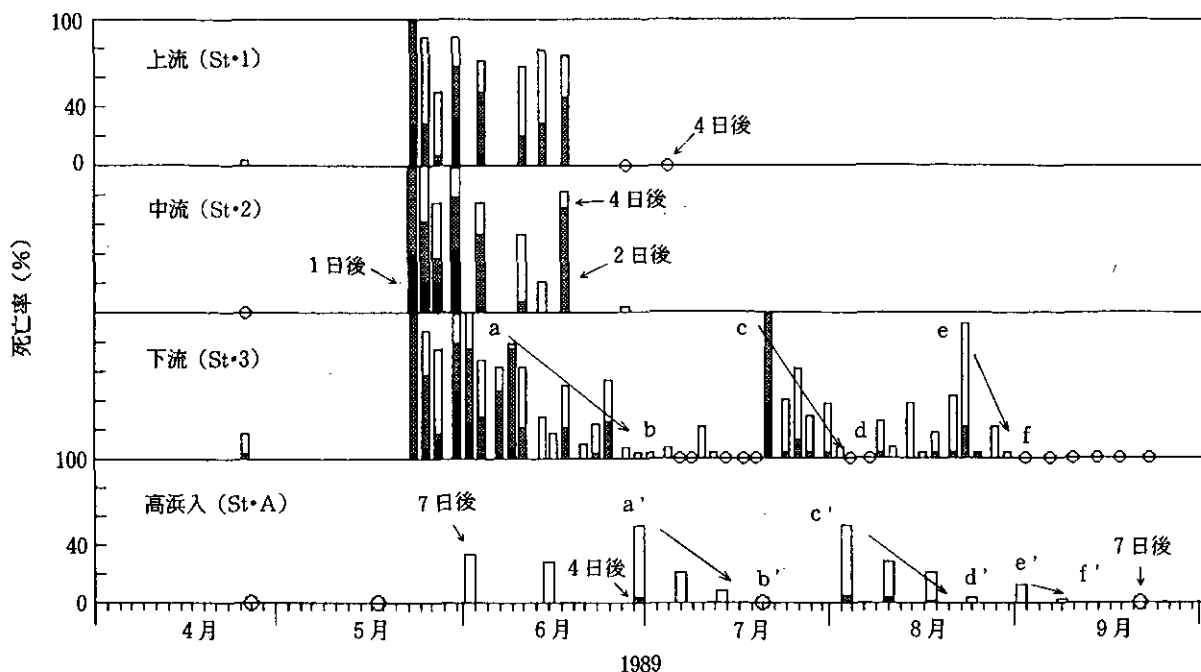


図12 恋瀬川の上流・中流・下流定点の河川水サンプル、及び霞ヶ浦、高浜入（河口 500 m 沖）の湖水サンプル中におけるヌカエビ死亡率の変動  
（湖水では試験期間を7日まで延長、各地点は図1参照）

を招く可能性がある（コカゲロウ、ミジンコの調査・試験の結果でも後記）。

### 2.1.3 殺虫剤に対する水生昆虫の感受性の種間差と生息環境の関係

ヌカエビを用いた生物試験により、つくば市やその周辺の調査河川（図1）では春から夏期にかけ、ヌカエビのように農業感受性の高い水生生物にとっては、その持続的生息が困難と思われるほど毒性が増大した（1989年）。

河川には魚の餌となっている多種多様な水生生物が生息して生態系を支えているが、これらの農業類に対する感受性は概して魚よりも2～3桁も高い（農業類に弱い）。そのため様々な水生生物の殺虫剤に対する感受性を比較した。さらに、殺虫剤汚染とそこに優占する水生生物の殺虫剤抵抗性にいかなる因果関係があるのか、殺虫剤に抵抗性が高い水生生物の耐性機構に関しても調査・研究を行った。農業害虫では経済的側面から、これらに関し詳細な検討がなされているが環境生物での研究は極めて少ない。

#### (1) 水生昆虫の殺虫剤感受性試験法

フェニトロチオン（有機リン系殺虫剤）に対する感受

性の種間差を調べる目的で河川に隣接した人工水路（循環式）や室内に設置した小型流水式水路を用いて、様々な水生昆虫に対する急性毒性試験を行った。河川に生息するカゲロウ、カワゲラ、トビケラなどは現在実験生物化はほとんど不可能なため、採集後現場で分類し、できるだけ速やかに流水環境下で試験する必要があったためである。

試験には採集、分類、試験実施上の都合で、少なくとも7mm以上に生長した材料を使用した。しかし、水生昆虫の薬剤感受性はふ化直後（1mm以下）から若齢期間がさらに何倍も高いことを考慮しなければならない。

#### (2) 水生昆虫のフェニトロチオンに対する感受性の種間差

マダラカゲロウ、トビケラ類の中に比較的耐性の高い種があった（図13）。特に日本の河川で現存量（重さとして）が最も大きくなる傾向が強いヒゲナガカワトビケラのフェニトロチオンに対する半数致死濃度（24h-LC<sub>50</sub>）は数100 μg/lと水生昆虫の中では比較的高い耐性を示した。農業汚染環境下の河川に優占するウルマーシマトビケラも高い耐性を示し、特にコガタシマトビケラは4000 μg/lと魚類にも迫る著しい耐性を示した。さらに本種は他の殺虫剤、フェンチオン、マラソン、フェノブ

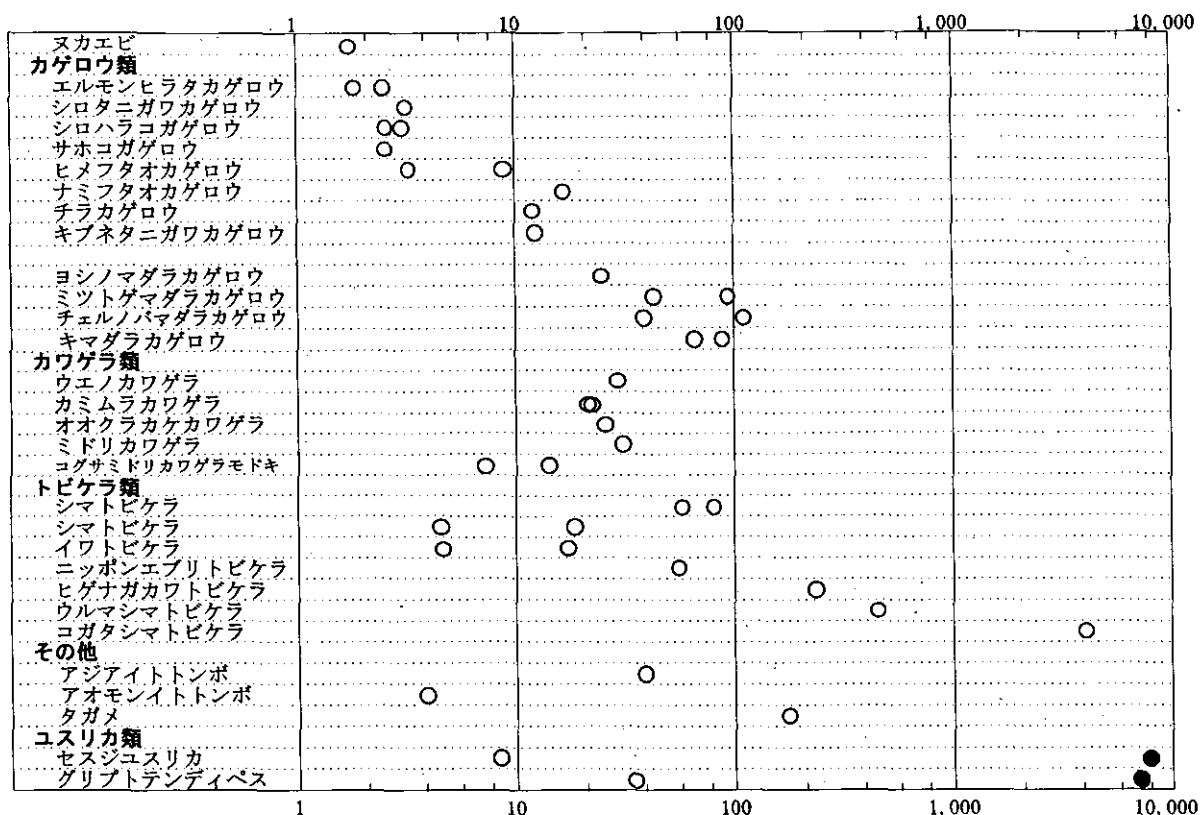


図13 フェニトロチオン（有機リン系殺虫剤）に対する水生昆虫の感受性（24時間半数致死濃度， $\mu\text{g/l}$ ）の種間差・系統間差（河川の水生昆虫は実験水路で試験）

カルブなどに対して、半数致死濃度が数1000  $\mu\text{g/l}$ 以上の耐性を示したが、ごく近縁のシマトビケラ（形態の差から、近年コガタシマトビケラとは別種とされた）の24h-LC<sub>50</sub>値はフェニトロチオンに対しては20  $\mu\text{g/l}$ 、他の殺虫剤に対しても100  $\mu\text{g/l}$ 以下とカゲロウ並の高い感受性を示した。

国内各地の河川を調べたがコガタシマトビケラはいずれの地点も高い耐性を示し、感受性系統はこれまでに検出されていないため本種が本来このような薬剤耐性を有していたのか、あるいは長年農薬類に暴露された結果突然変異を起こして耐性系統に置換したのかは明らかでない。

本種の殺虫剤耐性機構を検討した結果、体内に特殊なタンパク質を有し、フェニトロチオンが有毒化したフェニトロオクソンを速やかに結合して無毒化し、殺虫剤が標的酵素（アセチルコリンエステラーゼ）に作用するのをブロックしていることが分かった。したがって、現在の農薬汚染レベルでは本種が影響を受けることは考え難く、その結果農薬汚染河川において代表的な優占種となっているものと考えられる（生物調査は後述）。

河川の礫面上に発生する藻類を摂食する主要な水生昆虫であるカゲロウの仲間の半数致死濃度は、いずれも10  $\mu\text{g/l}$ 以下と比較的高い感受性を示した（図13）。

これらはいずれも体長7 mm以上の成長段階の生物で試験を実施したが体長1 mm前後の若齢期では感受性は数倍以上高いはずである（後記のユスリカ、他の文献などから）。しかしコカゲロウの数種（サホコカゲロウ、シロハラコカゲロウなど）は殺虫剤感受性が高いにもかかわらず農薬汚染環境下の河川に生息していることが多い。これらの種はその移動性（夜間に流下する）や高い成長速度、成長段階が異なる多くの集団から構成されているため一時的に殺虫剤の影響を受けてもその地域への回復能力が高いためと考えられる（関連する生物調査は後述）。

#### 2.1.4 ユスリカの殺虫剤に対する感受性差と殺虫剤汚染環境との関係

ユスリカは幼虫・蛹期を水中で過ごす水生昆虫で、国内だけでも500種以上いるとされている。ユスリカは様々な環境に適応した種が生息しており、環境汚染の指標生

物としても用いられている。例えば他の生物が生息できない酸性湖沼、重金属汚染河川にも出現し、また富栄養化湖沼や有機汚濁河川では大発生することも多い。セスジユスリカ (*Chironomus yoshimatsui*) は農業害虫や衛生害虫ではないが、都市の河川で大発生する不快昆虫としてしばしば薬剤駆除の対象になり、そのような地域では薬剤耐性の獲得が報告されている。ユスリカは生態系の重要な構成種であるため殺虫剤感受性の検討自体も重要であるが、さらにユスリカの殺虫剤感受性と化学物質汚染の履歴との間にかなる関係があるのかも調査・研究の主要な目的となった。

#### (1) ユスリカの殺虫剤感受性

つくば市周辺から7種のユスリカ幼虫を採集し、殺虫剤4種に対する感受性を48時間半数致死濃度(48h-LC<sub>50</sub>)で比較した。ユスリカ幼虫を採集し研究室で人工軟水で洗浄後、人工軟水を入れたガラスビーカー(20~100 ml)に導入した。試験では対照区を含め8濃度段階、1濃度区の繰返しを4ビーカーとし、最低3回以上試験を行いプロビット法で半数致死濃度を決定した。試験に用いた殺虫剤は有機リン系のフェニトロチオンとフェンチオン、カーバメイト系のフェノブカルブ、合成ピレスロイドのエトフェンプロックスである。薬剤

の効果判定は試験開始24時間後、48時間後に観察し、48時間後の死亡率を求めた。死亡の基準には柄付き針で触れても全く回避行動を示さない瀕死状態の個体も含めた。

4種類の殺虫剤に対する7種のユスリカ(4齢幼虫)の感受性を48時間半数致死濃度としてを表4に示した。有機リン系殺虫剤のフェニトロチオンについてみると、最も感受性の高い種は国立環境研究所内の水槽から採集した*Psectrotanypus varius*(以下、和名がない種は学名記載)であった。次いで日光市湯元産のセスジユスリカが、さらに小貝川のヤモンユスリカ(*Polypedilum nubifer*)などの感受性が比較的高かった。表では示さないが単為生殖するユスリカ*Paratanytarsus parthenogeneticus*, *Orthocladius grabipennis*などもフェニトロチオンの48h-LC<sub>50</sub>値は10 µg/l以下であった。

フェンチオンについてはフェニトロチオンと同じような傾向が見られたがその順位は異なった。これらの結果からユスリカ類4齢幼虫の有機リン剤に対する本来の感受性は48h-LC<sub>50</sub>値では10 µg/l前後と種間差はそれほど大きくなく10倍前後が限度であると判断された。セスジユスリカ, *Glyptotendipes tokunagai*, *Cricotopus bicinctus*の3種は複数の採取地からの個体をテストし

表4 殺虫剤4種に対するユスリカ類4齢(1齢)幼虫の48時間半数致死濃度(µg/l)

種名	採取地	フェニトロチオン	フェンチオン	エトフェンプロックス	フェノブカルブ
セスジユスリカ	湯元(日光市)	8.9(1.0)	8.3(1.0)	3.9(0.6)	210(5.1)
	荒川沖(土浦市)	3,100	160	14	3,900
	乙戸川(牛久市)	3,600(550)	810(12)	20(1.7)	5,700(2,200)
	栗原(つくば市)	5,100(990)	670(10)	8.0(0.8)	7,000(2,000)
	荒川本郷(阿見町)	4,600(620)	760	35	8,300
	三王川(石岡市)	3,300	46	94	1,300
	小桜川(八郷町)	1,700	79	49	5,700
	宮前川(松山市)	4,100	360	4.9	7,100
<i>Glyptotendipes tokunagai</i>	霞ヶ浦(土浦市)	60	8.6	33(5.0)	95
	小貝川(谷和原村)	4,800	56	250	161
<i>Cricotopus bicinctus</i>	小貝川(谷和原村)	140	<62	16	1,300
	宮前川(松山市)	2,400	390	440	470
ヤモンユスリカ	小貝川(谷和原村)	24	3.6	43	600
<i>Psectrotanypus varius</i>	国立環境研究所内	3.2(0.9)	0.7(0.4)	7.6(0.7)	<125(45)
<i>Dicortendipes nerbosus</i>	小貝川(谷和原村)	6,300	<32	81	-
フチグロユスリカ	小貝川(谷和原村)	4,800	1,400	2.6	239

( )は1齢幼虫の半数致死濃度を示す。

た。

セスジユスリカでは7地区のものを比較したが、その内6地区の感受性は日光市湯元産に比べて著しく低く、フェニトロチオンでは松山市宮前川産では800倍以上に達し、つくば市周辺のものとも約130～500倍の差があった。フェンチオンにおいても湯元産と他の産地のものとの間には著しい感受性の差があった。

セスジユスリカ以外の2種の場合2産地間の差も明らかで *G. tokunagai* ではフェニトロチオンに対して約80倍の感受性差が認められた。一方、小貝川産フチグロユスリカ (*Chironomus circumdatus*) や *Dicrotendipes nerbosus* は非常に高い薬剤抵抗性を示したがこれらの種については感受性の高い系統が現在のところ見つかっていないためこれらが耐性を獲得した系統なのか、それとも本来的に抵抗性を有していたのかは断定できない。

エトフェンプロックスに対する感受性は有機リン系殺虫剤の場合とまったく異なっていた。最も感受性の高かったのは小貝川産のフチグロユスリカであったが、その他数種のユスリカでも  $LC_{50}$  値が  $10 \mu\text{g/l}$  以下の高い感受性を示した。今回のユスリカ採取地でエトフェンプロックスが繰り返し散布されているのは松山市宮前川であり、小貝川近辺でもエトフェンプロックスは販売されている(ごく最近では全国的に使用されている)が水中濃度は測定していない。これら2地点から採取した2種のユスリカにおいてのみ感受性の低下したと考えられる系統が見つかった。ただしセスジユスリカのみに限っても感受性 ( $LC_{50}$  値) に25倍の系統間差(種内変異)あったところから、この薬剤は販売開始後数年しか経ていないため耐性を獲得した系統は他の薬剤のように顕著ではないと推察された。

フェノバカルブに対し最も感受性の高いのは霞ヶ浦産の *G. tokunagai* であった。小貝川産の同種やフチグロユスリカもこの薬剤には弱く、そのほか湯元産セスジユスリカ、*P. varius* の感受性が高かった。逆に全体として有機リン剤耐性系統のセスジユスリカはどの系統も薬剤感受性が著しく低まっており、また小貝川産の *C. bicinctus* とヤモンユスリカも感受性低下の傾向にあった。

以上のように4種類の殺虫剤について調査した結果、ユスリカ類は著しい薬剤耐性を獲得した系統が各地に存在することが明らかになった。一方、ユスリカも耐性さえ獲得していなければ薬剤感受性は通常の水生昆虫並に

高く、ユスリカ類の種間差は大部分は10倍以内にとどまると考えられた。

## (2) 发育ステージによる感受性差

ユスリカはふ化直後の1齢から脱皮を繰り返し、4齢幼虫から蛹となり羽化して成虫となる。表4に4齢と1齢幼虫の試験結果をまとめたが、一様に1齢幼虫は4齢に比べて感受性が数倍から10倍ほど高い値を示した。1齢と4齢幼虫の感受性の差は薬剤により異なり、セスジユスリカ(乙戸川産)のフェンチオン耐性には1齢と4齢間には約70倍の差があったのに対し、フェニトロチオンではわずかに数倍であった。

なお4齢後期(すぐ蛹になる)及び蛹では半数致死濃度が算出できないほど殺虫剤に対する感受性が低下していることが明らかとなった。この時期における薬剤代謝や薬剤摂取が幼虫期とは異なると推測された。

## (3) 殺虫剤耐性のメカニズム

同一種でも採集地によって薬剤感受性に大差があることが分かった。そこで最も多くの地点で採取された種であるセスジユスリカについて、フェニトロチオンに対する耐性メカニズムを検討した。フェニトロチオンの薬理効果は神経シナプスのアセチルコリンエステラーゼの活性を阻害するものである。その場合、フェニトロチオンは体内でフェニトロオクソンに変化してはじめて作用する。そこでアイソトープでラベルしたフェニトロオクソンを用いた試験を行った。各地から採取したセスジユスリカの4齢幼虫を緩衝液中ですり潰し、遠心分離器である分画を取り出す。これに、フェニトロオクソンを作用させその活性の変化を計測した。試験には感受性系統である日光湯元産と採集地が違う5つの耐性系統、併せて6系統を用い比較した(表5)。

耐性系統ではアセチルコリンエステラーゼの半阻害濃度 ( $I_{50}$  濃度) が感受性系統に比して4倍から70倍になっていた。フェニトロオクソンの加水分解活性は感受性系統と同程度から11倍に高まっているものがあった。また、特異的結合タンパク活性は1系統を除いて感受性系統と同程度かもしくはわずかに下回る値であった。

これらの結果からセスジユスリカの対有機リン剤耐性はアセチルコリンエステラーゼの感受性の低下および加水分解活性の増加が主で系統によっては特異的なフェニトロオクソン結合タンパクの生成などの機構が存在する



表5 セスジユスリカの有機リン系殺虫剤フェニトロチオンに対する耐性機構

採取地	48 LC <sub>50</sub>	AchE <sup>1)</sup> 活性	半阻害濃度 ( $\times 10^{-7}$ M)	結合タンパク <sup>2)</sup> 活性	加水分解 <sup>2)</sup> 活性
湯元(日光市)	8.9( 1)	18	4( 1)	71( 1 )	5.2( 1 )
荒川沖(土浦市)	3,100(350)	17	25( 6)	45(0.6)	8.7( 1.7)
乙戸川(牛久市)	3,600(400)	10	16( 4)	58(0.8)	25.5( 4.9)
栗原(つくば市)	5,100(570)	9.6	280( 70)	327(4.6)	59.7(11.4)
三王川(石岡市)	3,300(370)	6.2	46( 7)	58(0.8)	15.7( 3.0)
小桜川(八郷町)	1,700(190)	8.3	79( 5)	70(1.0)	4.8( 0.9)

1) アセチルコリンエステラーゼの活性を示し、単位は n mole/min/mg protein

2) 単位は p mole/hr/mg protein

( ) は湯元産(感受性系統)に対する相対値

ことが明らかになった。しかし、これらのメカニズムだけで著しい殺虫剤耐性が成り立っているかどうかはさらに検討を要する。

表5で明らかなように有機リン系殺虫剤に強い系統は耐性をもった反面、本来の役割であるアセチルコリンの分解活性が際立って低下した系統があった。中でも石岡産はそれが1/3にまで低下しており(ただし、一定タンパク量当たりの活性)それが生活力にどの程度の抑制効果をもたらすかは不明であるが、種内競争が起これば不利な要因となる可能性があると推測された。

#### (4) セスジユスリカの薬剤耐性の全国的分布

つくば市周辺の河川ではセスジユスリカはすべて有機リン系殺虫剤に対する耐性系統であった。そこで採集範囲を広げ、フェニトロチオンに限って、北海道1地点、栃木県日光市内1地点、今市市1地点、東京都下2地点、伊豆下田周辺5地点、愛媛県松山市内2地点、屋久島1地点からセスジユスリカを採取して感受性試験を行った。

北海道静内町産は試験した個体のかかなりの部分が100  $\mu\text{g/l}$ で死亡したが、1 mg/lでも生き残るものもいた。日光市内でも湯元からそれほど遠くない市街地(飯野)から採取した個体は薬剤濃度-死亡率曲線が示す通り(図14)、約60%の個体は48h-LC<sub>50</sub>は10  $\mu\text{g/l}$ 程度、残り40%は1 mg/l以上であると判断された。このように日光市内と静内町では感受性系統と耐性系統が共存しているものと判断された。他の産地では屋久島も含めすべてが薬剤耐性系統であった。これらの結果からセスジユスリカの場合、全国的にはほとんど耐性系統で占められており、薬剤感受性系統は日光湯元のようにかなり農業

類汚染から隔離され、かつセスジユスリカの生育に適した有機汚染がある河川という限られた環境でしか生育していないものと推測される。

#### (5) 化学物質汚染指標としての薬剤感受性

今回の調査で農薬汚染環境とそこに生息するユスリカの薬剤耐性の間には表4に示すようにかなりの因果関係が認められ、薬剤耐性が現在もしくは過去の薬剤汚染を示していると言えそうである。ただし、セスジユスリカのように感受性系統がごくまれにしか生息していないような種もあることから薬剤耐性と薬剤汚染の関係はそう単純ではない。そのためには、ユスリカの移動性、薬剤耐性系統と感受性系統の生息環境適応性、両系統の競争関係などさらに検討課題は残されている。

また、小貝川の調査では初夏から秋期まで羽化してい

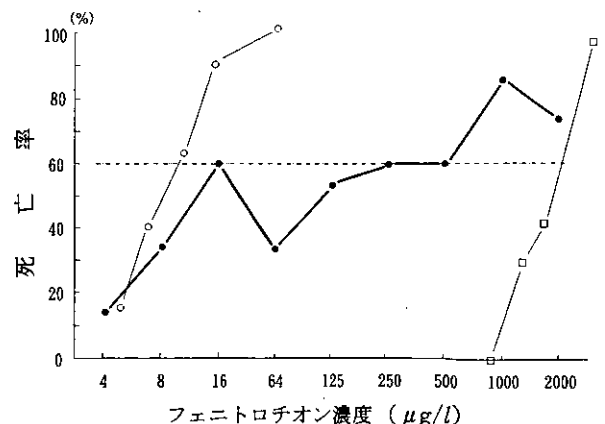


図14 セスジユスリカ3系統の殺虫剤～48時間死亡率曲線  
感受性系統(日光市湯元産:○-○-), 耐性系統(乙戸川産,  
-□-)及び日光市飯野産(-●-) 日光市飯野産は全体の約  
60%が低濃度域で死亡, 残り40%が高濃度域で生き残った。

たフチグロユスリカ, *G. tokunagai*, 等は冬期にも採取され, その間も高い薬剤耐性を示した。一方, 冬期にのみ繁殖し優占する *Orthocladius glabripennis* は4種の殺虫剤に対しすべて高い感受性を示した。この種は夏期を底泥中で夏眠するといわれ, 河川の薬剤濃度が高まる時期を乗り越えることが可能であったと考えられる。このように高感受性種にもかかわらず殺虫剤汚染河川にも生息し得るものもあることが明らかになった。この点でも薬剤感受性を化学物質汚染指標として用いる場合検討が必要である。

### 2.1.5 タガメの農薬類感受性と絶滅危機の原因に関して

タガメはかつては水田や池沼に生息するごくありふれた昆虫であったが, 最近ではほとんどみられなくなり, 「レッドデータブック」の危急種に指定されるほどになっている。昭和53～54年度実施の第2回「緑の国勢調査」

良好な自然環境の指標昆虫の減少および滅亡の要因の調査結果では農薬の散布がタガメを絶滅の危機に追いつめたとされる。このタガメ減少の最大要因とされる農薬について, その種類は何であったか, 現在も引き続きタガメの生存をおびやかしている農薬はないのか, との観点からタガメの農薬類に対する感受性を調べた。

試験は生後2日目のタガメの1齢幼虫を100 mlの農薬溶液の入ったビーカーに1個体ずつ入れて行い, その後の生死を観察した。

試験の結果タガメの96時間半数致死濃度は有機塩素系のBHCが0.07  $\mu\text{g/l}$ と最も低く, DDTは3.4  $\mu\text{g/l}$ であった。一方, 稲や野菜, 果樹の害虫駆除に最近広く使われ出したエトフェンプロックスおよびイネミズゾウムスの殺虫剤カルボスルファンの96時間半数致死濃度も1  $\mu\text{g/l}$ 程度と極めて低い値を示した(表6)。

また, BHC, カルボスルファン, クロルデン, ダイ

表6 タガメ(1齢幼虫)に対する農薬の48時間, 96時間半数致死濃度( $\mu\text{g/l}$ )

農薬の種類	48 hrs	96 hrs	使用期間	
<b>殺虫剤・殺菌剤</b>				
有機塩素系	BHC	5.37(3.32-8.69)*	0.07(0.03-0.21)	1948~71
	DDT	5.73(3.97-8.28)	3.36(2.67-4.23)	1947~71
	クロルデン	154 (56.6-417)	92.6 (47.7-180)	1950~68
有機リン系	フェンチオン	75.2 (61.9-91.3)	34.5 (25.7-46.2)	1970~
	ダイアジノン	928 (248-3470)	141 (97.1-207)	1955~
	フェニトロチオン	108 (92.7-126)	56.7 (43.6-73.8)	1961~
	馬拉ソン	>10000	7660 (529-1110)	1953~
	DDVP	340 (270-430)	210 (150-280)	1957~
	ピリダフェンチオン	189 (146-243)	96.4 (79.5-117)	1973~
	EDDP	10840 (5420-21700)	3610 (3000-4330)	1967~
カーバメート系	BPMC	143 (120-171)	125 (97.3-161)	1968~
	カルバリル	1440 (1090-1920)	930 (700-1230)	1959~
	カルボスルファン	1.31(1.20-1.43)	1.19(1.10-1.30)	1984~
ピレスロイド様	エトフェンプロックス	1.44(0.80-2.60)	1.11(0.68-1.83)	1987~
<b>除草剤</b>				
	PCP	>10000	>10000	1959~75
	クロルニトロフェン	1690 (640-4490)	81.2 (57.0-116)	1965~93
	オキサジアゾン	2290 (1880-2770)	1290 (920-1810)	1972~
	ベンチオカーブ	2580 (81340-1860)	730 (530-1000)	1969~

\* ( ) 内の数字は, 95%信頼限界を示す。

アジノン、エトフェンプロックスおよびフェニトロチオンの殺虫剤の1 mg/lの溶液に1時間ほど暴露した1匹のグッピーの体液を吸っただけでタガメの1齢幼虫は死亡することから、農薬の2次的な摂取によってもタガメは影響を受けたことが示唆された。

BHCは稲のウンカの駆除に有効なことが1949年に認められて以来、1954年以降禁止されるまで年間数万吨ずつ農薬として使用されていた。一方、DDTは、1946年に稲のニカメイチュウに使用されて以来、農業用としては数百トンずつが使用された。

以上のようなことから、BHCやDDTなどの殺虫剤はかつてタガメの減少に甚大な影響を及ぼしたと推測される。なお昨今、新規殺虫剤として開発上市された農薬の中にタガメに対する毒性の高いものがあることが注目される。

タガメは、約60匹ほどの小魚を食べてやっと親になれる。魚やカエルなどを食べるタガメは、鳥類と同じ食物連鎖のトップに位置している。タガメが生息するためには、農薬に汚染されていないエサが必要である。

また、産卵のための水草や越冬のために水からはい出て潜り込める落ち葉のある森も必要とする。タガメの生息地は、今では農薬汚染の少ない山間部の池沼や河川などに限られてしまったが、そこには昔ながらの田園風景が広がっており、人にも心地よい場所でもある。

タガメがいることは、安心して食べられる豊富なエサがあることの証拠でもある。タガメは、人が安心して食べられ住める快適な自然環境のパロメータとしても位置付けられよう。レッドデータでいう「危急種」とは、もしも現在の状態をもたらした圧迫要因が引き続き作用するならば、近い将来「絶滅危惧種」のランクに移行することが確実と考えられるもの、と定義される。

タガメを絶滅から救うために、その生存の圧迫要因である毒性の強い農薬の散布・流出の規制、今わずかに残る生息環境を保全区域とするなどの方策が望まれる。

### 2.1.6 農薬汚染河川に優占する水生昆虫3種の殺虫剤感受性評価

農薬類汚染河川に優占するコガタシマトビケラ、ウルマーシマトビケラ、ウスバヒメガガンボに対する4種類の農薬(殺虫剤; フェンチオン、フェノブカルブ、除草剤; クロロニトロフェン、オキサジアゾン)の半数致死濃度(48-h)を比較検討した。水生昆虫のほとんどは夜

間は礫の下やその間に潜んだり、トビケラの多くは巣の中で生活している。もし、殺虫剤の影響により、トビケラが苦悶して巣から追い出されることは、下記に述べるように生物にとって様々な不都合な事態に陥る。

これらの事態を予想した殺虫剤の影響試験も併せて検討した。フェンチオンのコガタシマトビケラに対する48h-LC<sub>50</sub>値は700~800 μg/lと高い値を示したが、ガガンボやウルマーシマトビケラでは120 μg/l、25 μg/lと比較的低い値を示した(表7)。

いずれにしろ死亡を基準にした試験で判定する限り、環境中での殺虫剤濃度では死亡率は0またはあってもきわめて低い値となる。しかし、殺虫剤の影響をトビケラが巣(トンネル状)の外に出してしまうという試験法(試験水槽内に回転流を作り試験)で半数影響濃度(半数が巣から出る濃度)を算出したところ、ウルマーシマトビケラは半数致死濃度よりもかなり低い濃度で巣外に出してしまうことが分かった(表7)。不自然に巣外に出されることは、餌の摂食が満足にできなくなる(巣の回りに広げたネットに捕集した微粒子を摂食)、魚に発見され捕食される可能性が増すなどその個体にとって持続的生存へのリスクが増大することを意味する。

そのためトビケラに対する殺虫剤の複合汚染の影響を巣外に出る反応からさらに検討した(図15)。ウルマーシマトビケラは水生昆虫のなかでは薬剤耐性が高い生物であるが(表7)、5 μg/lという環境中でも検出されるような比較的低い濃度の殺虫剤(ダイアジノン、フェニトロチオン、フェンチオン)の2種、または3種の相対的影響によって約3日後(2種殺虫剤)、または1日後(3種殺虫剤)に半数の個体が巣外に出してしまうことが明らかとなった。一方、殺虫剤に対する耐性が著しいコガタシマトビケラでは3種の殺虫剤による複合暴露でも巣外反応はほとんど認められなかった(図15)。

### 2.1.7 農薬類複合汚染のカゲロウの成長・羽化に及ぼす影響評価

水生昆虫は河川生態系の食物連鎖では藻類(1次生産)生産と魚類の間に介在し、生態系の維持には極めて重要な役割を担っている。しかし農薬類に対する感受性は上記のユスリカやトビケラなどを例外とすれば概して高いため殺虫剤複合汚染の影響評価が必要とされる。しかし、その大部分は川の流れの中に生息し、人工的な繁殖が現在ではほとんどできていないため室内の生物試験が極め

表7 農薬類汚染河川に優占した3種の水生昆虫の4種の農薬に対する感受性の種間差, 半数致死濃度と半数出巢反応濃度(48時間)の比較

水生昆虫	効果	殺虫剤		除草剤	
		フェンチオン	フェノブカルブ	クロルニトロフェン	オキサジアゾン
ウルマーシマトビケラ (酒沼川)	LC	25	57	130	410
	EC	8	3	40	110
コガタシマトビケラ (酒沼川)	LC	690	530	9340	7650
	EC	330	350	5200	3230
コガタシマトビケラ (梶無川)	LC	820	700	12400	9010
	EC	540	250	4740	6020
ウスバヒメガガンボ (梶無川)	LC	120	810	8900	9400
	EC	-	-	-	-

48-時間: LC; 半数致死濃度( $\mu\text{g/l}$ ), EC; 半数出巢反応濃度( $\mu\text{g/l}$ )

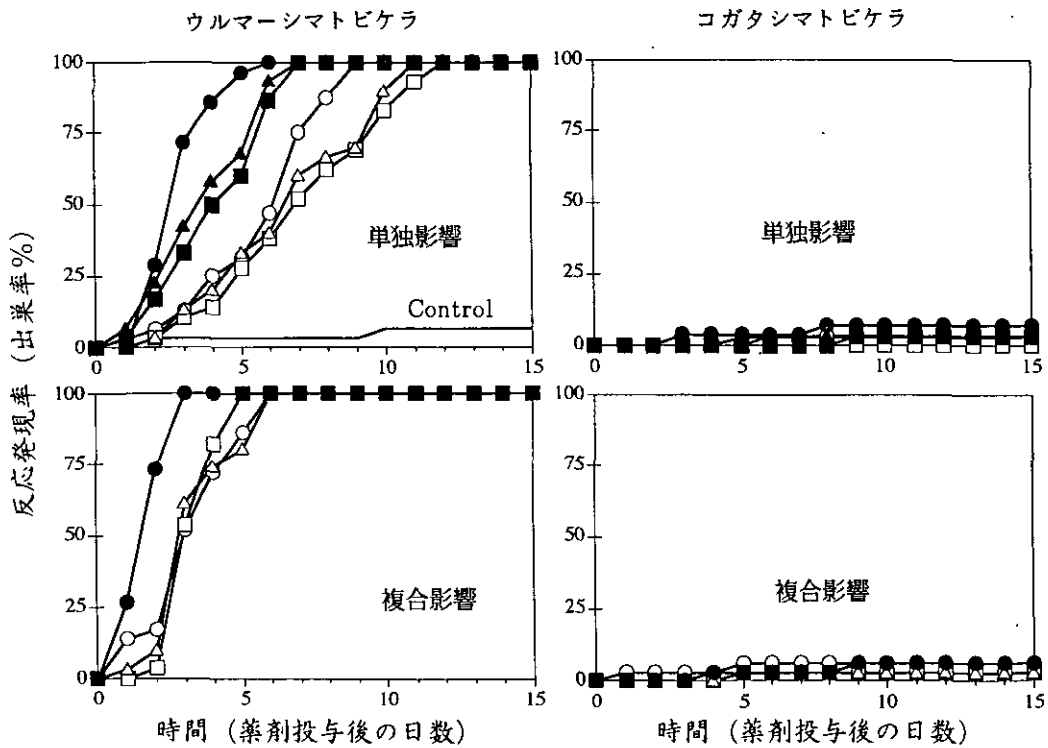


図15 トビケラ2種の出巢反応から見た, 3種殺虫剤の単独, 及び複合的影響の評価

単独影響 —; control, ○; ダイアジノン  $5\mu\text{g/l}$ , □; フェンチオン  $5\mu\text{g/l}$ , △; フェニトロチオン  $5\mu\text{g/l}$ , ●; ダイアジノン  $10\mu\text{g/l}$ , ■; フェンチオン  $10\mu\text{g/l}$ , ▲; フェニトロチオン  $10\mu\text{g/l}$ ; 複合影響: ○; ダイアジノン+フェンチオン (各  $5\mu\text{g/l}$ ), □; ダイアジノン+フェニトロチオン (各  $5\mu\text{g/l}$ ), △; フェンチオン+フェニトロチオン (各  $5\mu\text{g/l}$ ), ●; 3殺虫剤 (各  $5\mu\text{g/l}$ )

て困難である。そのため、藻類を節食する水生昆虫の代表として、ヒラタカゲロウの2種（エルモンヒラタカゲロウ、シロタニガワカゲロウ）を農薬類の汚染が低い河川から採集して以下の実験を行った。エルモンヒラタカゲロウは国内の河川に広く分布し、ある程度きれいな河川に優占する代表的な種である。鬼怒川上流（シーズンは鮎の釣り場として賑わう）からカゲロウの幼虫（5 mm 前後）を採集し体長を測定した後、小貝川河川水を導入した水路内のかごに入れてその後の成長・羽化率を調べた。食物としてタイル表面上の藻類を摂食させた。

4月から6月にかけて水路に導入したカゲロウの死亡率は次第に高まり、同時に羽化率は減少していった。ヌカエビ死亡率が高まる6月上旬はカゲロウの死亡率も急速に100%まで増大し、羽化率は0%になった（図16）。しかしその後羽化率は8月末には再び70%程度に回復した。特に冬期間や農薬使用時の直前（3月下旬）に水路に導入したカゲロウは冬期の低水温のため成長速度が遅かったが、早春にそのほとんどが羽化した（図16, exp. 8, exp. 9）。この実験では5 mm 前後に成長したカゲロウを他の河川から採集し繰り返し水路に導入した。しかし、実際の河川では春に生まれたカゲロウ類の仔供（1 mm 以下、農薬類感受性はさらに高い）が春から夏期にかけて連続的に農薬類の複合汚染に暴露され続けるた

め、その期間を生存し続け、秋に羽化・産卵できる可能性はさらに低くなる。

今回の実験結果は、農薬汚染が顕著な調査河川においてさえも、もし春～夏期の農薬汚染による影響が解除された場合は、冬～早春の実験などから予測してカゲロウなどのような感受性の高い水生生物でも生息可能な環境に回復する可能性があることを示した。

### 2.1.8 農薬類の河川生物群集に及ぼす生態影響評価

ヌカエビ試験により河川水中の農薬類総合毒性をモニターできたが、ヌカエビの死亡率が農薬類複合汚染の河川生態系に対する影響をいかに指標（または反映）するか、さらに農薬類による生態系影響とその回復などに関する調査研究を行った。

河川生態系に対する農薬類の影響を調査・研究しようとしても、現在の平野部の河川は必ずといっていいほど、農薬類や様々な環境汚染物質の影響を被っており対照となる河川の選定が困難である。さらに河川生態系は河川の改修、流量の増減、礫・砂地のような物理的生息環境、水温や周囲の植生など様々な要因で影響を被る。そこで、なるべく同じ環境下で農薬の影響を比較するために、同一河川で農薬汚染負荷が少ない上流域（対照）と汚染負荷が高い下流域で調査を行った。

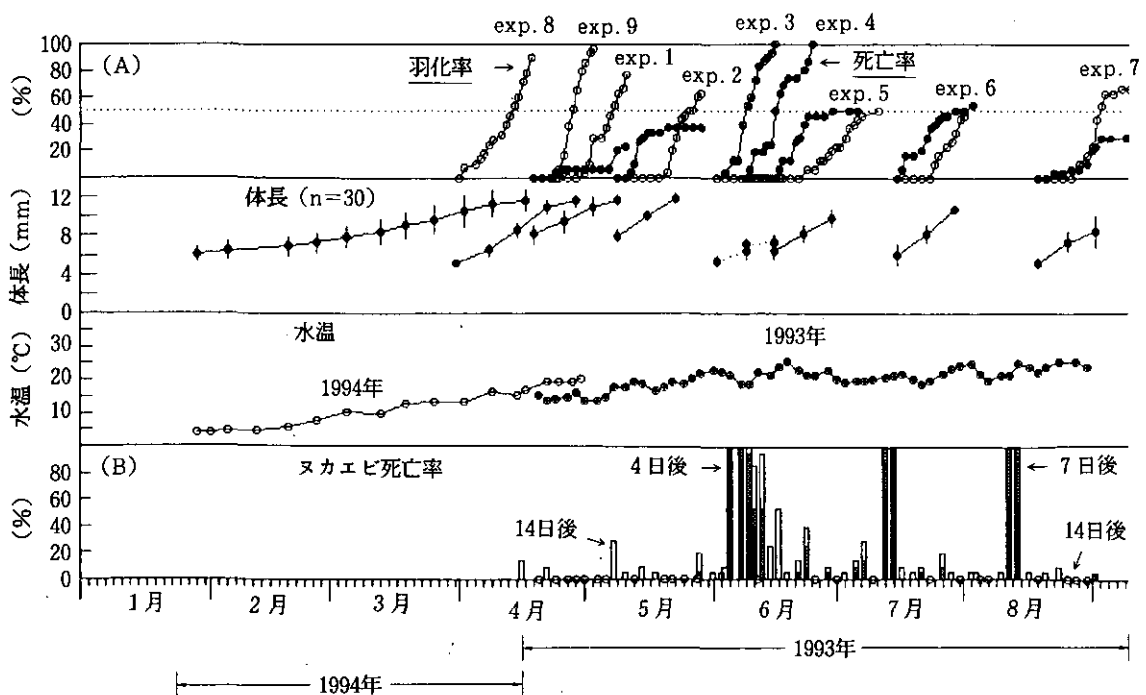


図16 農薬類の複合汚染のエルモンヒラタカゲロウの成長・生存率・羽化率に及ぼす影響の変動  
(実験法；小貝川河川水を導入した水路に、鬼怒川採集のエルモンヒラタカゲロウを導入)

砂川（山形県）の上流域は一部が無農薬水田地帯であり水田への農薬（殺虫剤・殺菌剤）類の空中散布も長年実施していない。一方、中流から下流域には7月下旬から8月20日頃まではほぼ10日置きに農薬の空中散布が行われ、その一部が河川に流入した（1989～'92調査）。例えば1989年の空中散布日と散布薬剤を表8に示すが、それらは1990、91年もほぼ同様であった。いずれの散布も早朝から行われ、開けた水田地帯であるため散布された薬剤のごく一部とはいえ直接に河川に入る。

(1) 殺虫剤散布による生物群集のかく乱とヌカエビ生物試験を用いたその影響評価

砂川上流域の無農薬・低農薬散布地帯（以後、ST5）と約5km下流の農薬散布地帯の定点（ST9）から週2回の頻度で砂川の河川水を採水し、それを宅急便で研究所に発送してもらいヌカエビの生物試験を実施した結果を図17に示した。ST5から採水した河川水サンプル中では、2回と3回目の空中散布時にヌカエビ死亡率の増大が認められたが、全体としての死亡率はST9に比べ低かった。ST9でも6月中旬までは2週間後の死亡率が0%、または数%と低い値を示し、また農薬汚染が消失した8月下旬からは死亡率は再び0%に戻った。このことは、調査河川では農薬類の汚染以外はヌカエビに致死的な影響を及ぼす物質は他になかったことを示す。

しかし6月中旬から2週間ほど死亡率の高まりが認められ、その後は7月20日からほぼ1カ月の間それぞれ

の空中散布（表8参照）の直後をピークとした顕著な死亡率の増大が起こった。図17は4日後までの死亡率を表しているが、殺虫剤空中散布（第2回、フェンチオン散布）後の2時間ごとに8時間後まで採水した河川水では、それぞれ24時間後の観察でも既に100%の死亡率が起こっていた（図18）。河川水中のフェンチオン濃度も散布直後からST9では約50 $\mu\text{g/l}$ まで急速に高まり、その後数時間の半減期で濃度が減少した（図18）。

水生昆虫は魚による捕食を避けるため昼間は礫の下に潜み、夜間に礫上の藻類を摂食するなど様々な活動を行う。その一方、多くの水生昆虫は夜間に川を流れ下り、下流で羽化して親になり再び上流に遡上して産卵するサイクルを繰り返す。これらの水生昆虫は殺虫剤の影響を

表8 調査河川（山形県・砂川）流域の中流以下の水田地帯における殺虫剤、殺菌剤の空中散布の実施計画（1989年）  
1990年と1991年もほぼ同様の空中散布が実施された。

7月20日（第1回）	殺菌剤：プロメニル、B 殺菌剤：エディフェンホス、フサライド
8月1日（第2回）	殺虫剤：フェンチオン 殺菌剤：エディフェンホス
8月10日（第3回）	殺虫剤：フェニトロチオン、フェノブカルブ 殺菌剤：トリシクラゾール、A
8月21日（第4回）	殺虫剤：フェンチオン 殺菌剤：エディフェンホス、イプロベンフォス

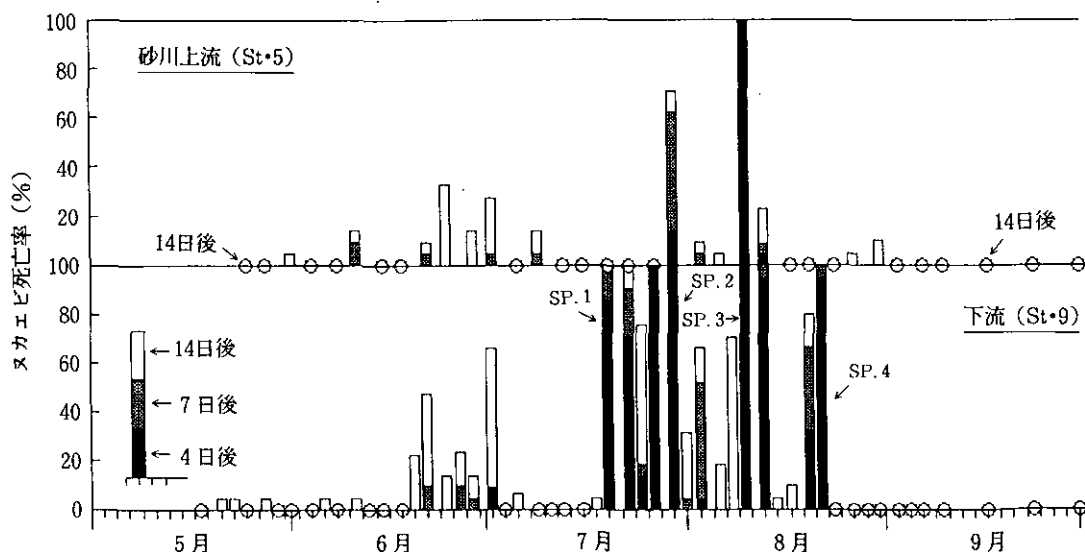


図17 砂川ST5、及びST9の河川水サンプル中でのヌカエビ死亡率の変動  
（矢印日(sp)；殺虫剤・殺菌剤の空中散布の実施日、表8参照）

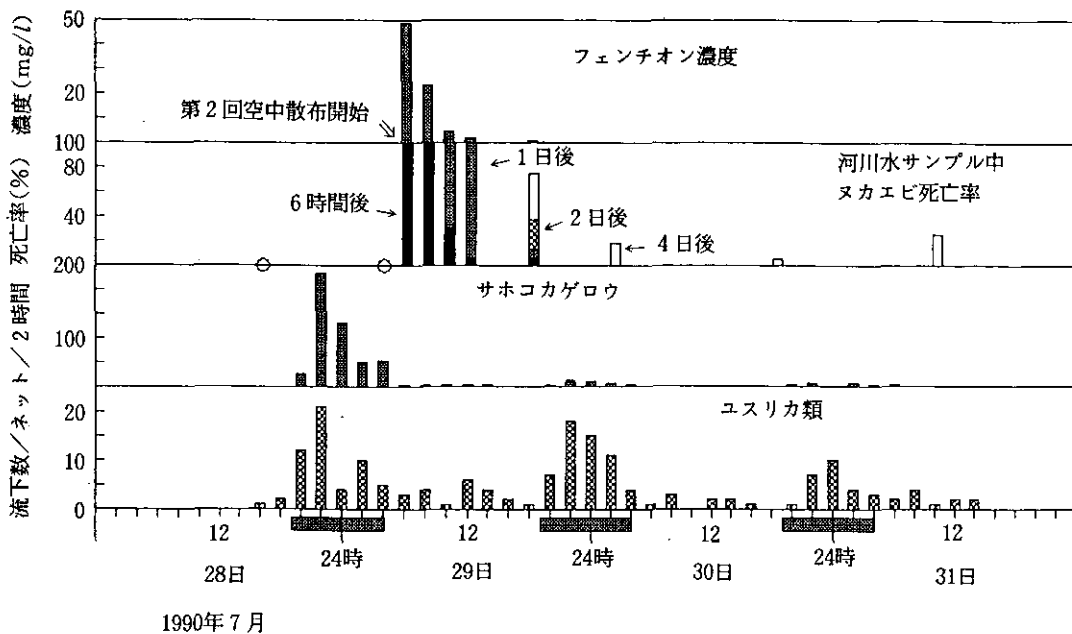


図18 第2回目の殺虫剤空中散後の砂川 (ST5, ST9) におけるフェンチオン濃度の変動, 河川水中ヌカエビ死亡率の変動, 及び散布日前後における水生昆虫優占種の流下パターン (個体数/流下ネット/2時間, ネット幅 30 cm, 水深約 25 cm, 流速 24 cm/sec)

受けると昼間でも生息場所から流されてしまう。そのため川床にネット (流下ネット) を設置して水中を流下する昆虫を捕集し, これを一定時間ごとに回収して薬剤の生態影響を調べる方法がある。砂川の ST5 と ST9 に流下ネットを設置し, 2 回目の殺虫剤空中散布の前日から 3 日間連続して 2 時間ごとのサンプリングを行った (図 18)。

ユスリカ (複数種) は年 4 回の空中散布期間にも砂川の ST9 に生息可能な数少ない優占種の一つである。夜間に見られる自然流下のパターンは殺虫剤散布前夜とそれ以後でもほとんど変化はなく, フェンチオン濃度が一時的にせよ 50  $\mu\text{g}/\text{l}$  まで高まったにもかかわらずユスリカ群集はあまり影響を受けなかった (図 18)。

サホコカゲロウ (*Baetis sahoensis*) でも殺虫剤散布前夜には夜間の自然流下は認められたが (図 18, 7/27~7/28), 殺虫剤散布以後では夜間の流下数は著しく減少した。これは殺虫剤の影響によりサホコカゲロウが死亡, または瀕死などの影響を受けたためである。松くい虫防除の殺虫剤空中散布に伴い 20  $\mu\text{g}/\text{l}$  のフェントロチオン (フェンチオンと化学構造・毒性が類似) が溪流に流入した場合でも多くの種類の水生昆虫が多数流下ネットに流入していた (筑波山の調査など)。しかし砂川の ST9 では, サホコカゲロウは殺虫剤の影響を受けたが殺虫剤散布後にごくわずかしかな流下ネットに入ら

なかった。これは, 朝から昼間にかけて流されたため魚に発見され, ネットに入る前に捕食されたためである可能性が高い。かりに死亡しないまでも, 殺虫剤の影響により行動の異常 (ミジンコの場合, 後記) や生息場所からの強制的な移動 (トビケラの場合, 前記) を被り, その結果, 魚により過剰な捕食を受ければそれも薬剤の間接的な生態影響として重要である。

コガタシマトビケラは ST9 の数少ない優占種であるが, 通常は巣の中に生息しているため, 夜間の流下も認められなかった。さらに, その顕著な殺虫剤耐性のため農業散布直後でさえも生息密度 (感受性の高い若齢でも) や成長段階が異なる集団 (5 齢存在) の分布構造にも変化は認められなかった。

一方, 砂川の ST5 では水生昆虫の種類数が多いため夜間には 20 種類前後の水生昆虫が流下したが, 殺虫剤の流入レベルが低かったため調査期間 (3 日) に水生昆虫の流下パターン (種類数・流下数) に特に変化は認められなかった。

## (2) 殺虫剤汚染の河川生物群集に及ぼす影響評価

砂川の ST5 と ST9 において, 殺虫剤・殺菌剤の空中散布期間には, ヌカエビの生物試験や殺虫剤の分析等により農業類の潜在的生態影響が顕著であることが分かった。砂川の上流から下流にかけての 8 地点において,

1989年4月から1年間河川の生物調査を行い農薬類の河川生態系に対する影響評価を行った。

表9にST9における水生昆虫の生息密度の変化を示すが、種類数は4月の28種(ただし、ユスリカ類を1種として扱う)から8月にはわずか4種に減少した。しかし種類数はその後冬期にかけ再び20種以上に回復の傾向を示した(表9、図19)。ただし生息密度は12月においても30種のうちの12種がわずか1個体/(サバーネット2回分、 $2 \times 0.1\text{m}^2$ 面積から採集)と極めて低く充分な回復とは言えないものであった。ST9において、農薬の空中散布期間を通して影響を受けなかったのはコガタシマトビケラとユスリカ類(複数種の混合)であった。特にコガタシマトビケラは殺虫剤に対し著しい耐性を有していることがこの河川ではじめて発見され、それが他の農薬汚染環境でも同様であることが分かった。

ユスリカに関しては複数種が混合していたが、8月に優占した種類数は少なく、8月12日に採集したサンプルでは *Cricotopus* の2種や *Tanytarsini*, *Polypedilum* の特定種が優占しこれらも殺虫剤に耐性を有していた可能性が高い。

一方、サホコカゲロウは殺虫剤散布直後には著しい影響を受け、散布後の夜間の自然流下がほとんど消失した(図18)。しかし、この種は夜間に流下する性質が高いこと、成長がずれた多くの集団が混在し、さらに成長速度が早いので9月には完全に回復していた。成長のずれた

多くの集団からなっていると一時的に殺虫剤暴露を受けても卵のステージにある集団は耐性が高く生き残り、また成虫段階の集団は水中の殺虫剤暴露を免れ得る。また、流下する性質によって他の地域集団からの移入が起こり得るなど回復のポテンシャルが高いため考えられる。

一方、砂川のST5における種類数、種組成、各種の生息密度(全体的)等は年間を通してST9に見られるような顕著な変動は認められなかった。個々の種類の生息数の季節的変動は省略するが、ST5とST9におけるカゲロウ、トビケラ、カワゲラ、双翅目昆虫などの種類数の変動を図19に示した。農薬類の汚染が少ないST5においては各水生昆虫目の種類数は年間を通して大きな変動はなく安定していた。

一方、ST9では既に表9でも示したように、農薬類汚染のインパクト(ヌカエビ試験等から評価)が高まる夏期の間のカゲロウ、カワゲラ、トビケラ類の種類数が激減していた。しかし、ユスリカやガガンボなど耐性種が多い双翅目では顕著な種数の減少は認められなかった。

トンボのヤゴは川岸沿いの水草帯に多く生息するため一般の水生昆虫とは別途に専用のタモ網を作製して上流から下流にかけ8地点で各季節ごとにサンプリングし、農薬汚染とトンボ類の生息状況の関係を調査した(図20、ST6以下は農薬類空中散布地帯)。四季を通して採取された種類数は上流から順に減少した。明らかに農薬類の

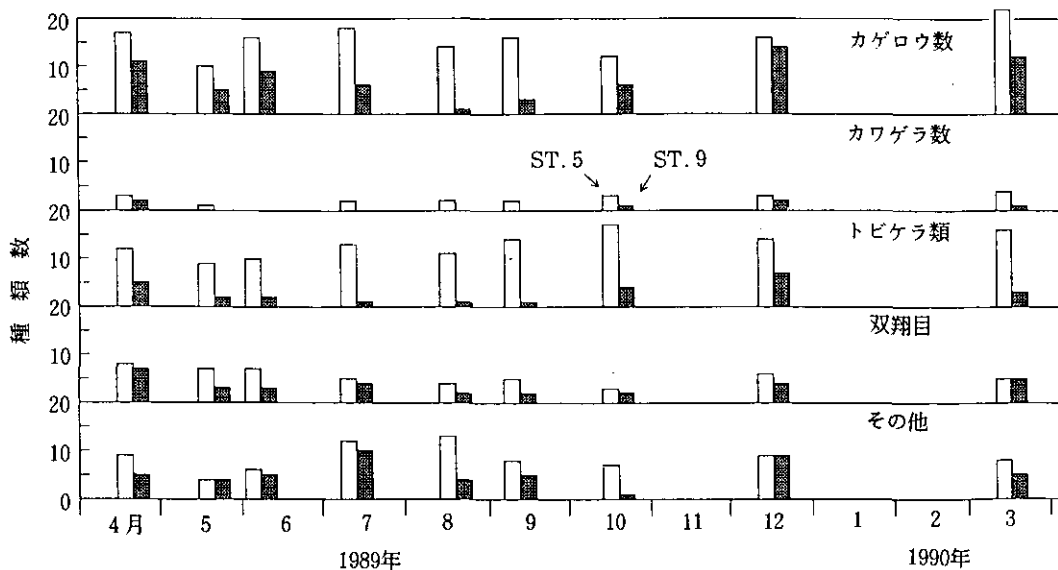


図19 農薬類の低汚染地帯と高汚染地帯を流下する砂川の定点(ST5とST9)における水生昆虫(カゲロウ類、カワゲラ類、トビケラ類、双翅目類、その他)の種類数の季節的変動(サバーネット(0.1m<sup>2</sup>), 2回分のサンプルによる)



表9 ST9における河川生物群集の変動

周辺では7月下旬からはほぼ10日間隔で4回殺虫剤、殺菌剤の空中散布(表8参照)が実施された。

水生昆虫 種名	4 APR	5 MAY	6 JUN	7 JUL	8 AUG	9 SEP	10 OCT	12 DEC	3 MAR
マエグロヒメフタオカゲロウ	1	-	-	-	-	-	-	1	-
サホコカゲロウ	-	15	17	584	4	53	8	5	-
シロハラコカゲロウ	29	-	2	-	-	-	1	12	79
コカゲロウ(sp.H)	26	-	-	55	-	1	11	11	46
コカゲロウ(sp.L)	-	-	-	-	-	-	-	138	15
フタバコカゲロウ(sp.)	-	-	-	-	-	-	1	-	-
シロタニガワカゲロウ	1	-	-	-	-	-	-	5	2
キブネタニガワカゲロウ	-	-	-	-	-	-	-	1	-
キイロヒラタカゲロウ	-	-	-	-	-	-	-	-	1
ナミヒラタカゲロウ	-	-	-	-	-	-	-	-	3
エルモンヒラタカゲロウ	5	-	1	-	-	-	-	-	-
キイロカワカゲロウ	4	4	20	5	-	-	12	17	4
シリナガマダラカゲロウ	-	-	-	-	-	-	-	7	-
オオクママダラカゲロウ	11	-	-	-	-	1	14	19	4
オオマダラカゲロウ	-	-	-	-	-	-	-	1	-
ヨシノマダラカゲロウ	20	8	16	-	-	-	-	-	3
ホソバマダラカゲロウ	6	-	-	-	-	-	-	15	3
イマニシマダラカゲロウ	-	1	17	4	-	-	-	-	-
マダラカゲロウ(spp.)	-	-	31	2	-	-	-	-	-
アカマダラカゲロウ	9	-	1	4	-	-	-	3	1
ヒメカゲロウ	3	3	34	-	-	-	-	1	1
クロカワゲラ(spp.)	-	-	-	-	-	-	-	10	-
アイズミドリカワゲラモドキ	3	-	-	-	-	-	-	-	-
アサカワミドリカワゲラモドキ	1	-	-	-	-	-	-	-	-
ヤマトアミメカワゲラモドキ	-	-	-	-	-	-	1	2	4
ヒゲナガカワトビケラ	-	-	-	-	-	-	-	1	-
コガタシマトビケラ	91	15	5	127	18	25	173	111	23
ウルマーシマトビケラ	4	-	-	-	-	-	1	2	2
シマトビケラ(sp.)	-	-	-	-	-	-	-	1	-
クロアタマナガレトビケラ	-	-	1	-	-	-	-	-	-
クレメンズナガレトビケラ	1	-	-	-	-	-	-	-	-
カワムラナガレトビケラ	-	-	-	-	-	-	-	-	1
ヤマトビケラ(spp.)	-	2	-	-	-	-	1	1	-
ヒメトビケラ(sp.)	-	-	-	-	-	-	-	1	-
コエグリトビケラ(sp.)	1	-	-	-	-	-	-	1	-
ニンギョウトビケラ	1	-	-	-	-	-	1	-	-
ゲンゴロウ(sp.)	-	-	-	-	-	-	-	1	-
チビヒゲナガハナノミ(sp.)	6	-	-	1	-	1	-	1	-
ヒメドロムシ(spp.)	13	2	5	10	-	2	-	4	8
ウスバヒメガガンボ	158	28	16	18	1	-	1	60	42
ブユ(spp.)	1	-	-	-	-	-	-	4	-
チョウバエ(sp.)	-	-	-	-	-	-	-	-	1
ヌカカ(Bezzia spp.)	2	2	1	-	-	-	-	-	1
ヌカカ(sp.)	-	-	-	1	-	-	-	-	1
ユスリカ(spp.)	561	490	601	744	312	292	1459	449	746
アブ(sp.)	-	-	-	1	-	-	-	-	-
オドリバエ(sp.1)	1	-	-	-	-	-	-	-	1
オドリバエ(sp.2)	-	-	-	-	-	-	-	1	-
オドリバエ(sp.3)	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Dolichopodidae	1	-	-	-	-	3	-	-	-
種数a)	28	11	15	13	4	8	13	30	22
生息数b)	961	570	769	1556	335	378	1684	886	991


		モイワサナエ				ヒガシカワトンボ				他のトンボ			
		夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春
	上流 St.2	モイワサナエ			モイワサナエ				ヒガシカワトンボ				他のトンボ
	St.3	モイワサナエ	モイワサナエ	モイワサナエ	モイワサナエ	ヒガシカワトンボ							他のトンボ
	St.4	モイワサナエ	モイワサナエ	モイワサナエ	モイワサナエ		ヒガシカワトンボ	ヒガシカワトンボ		他のトンボ	他のトンボ	他のトンボ	
	St.5		モイワサナエ	モイワサナエ			ヒガシカワトンボ		ヒガシカワトンボ				
	-----												
	St.6		モイワサナエ										他のトンボ
	St.7			モイワサナエ									
	St.8		モイワサナエ										
	下流 St.9				モイワサナエ								

図20 砂川の上流～下流の8地点（ST5、ST9は図17～19と同様）におけるトンボのヤゴ各種の生息密度の変動、ST6以下の流域（水田）には年4回殺虫剤・殺菌剤の空中散布が実施された（表8参照）

汚染が低い上流地帯と殺虫剤散布地帯では種類数・生息密度ともに大きな差異が認められる。ヤゴ（イトトンボの場合）の殺虫剤に対する感受性は比較的高めである（図13）こと、ヤゴの世代は1年と長く長期間汚染物質に暴露されること、ヤゴの餌となる水生昆虫の農薬類感受性も高いこと（餌となる水生生物の減少）など、トンボ類も直接的・間接的に農薬類の影響を受ける可能性が極めて高いものと考えられる。

ところで、トンボの種類によっては農薬類汚染の高い初夏期に成虫（トンボ）でいるため、水中の農薬類暴露を回避している可能性が考えられた。ハグロトンボをその例としてつくば市の河川で調査を進めたが、確かにこの期間は成虫で水中の農薬汚染を回避していたが、ただしそのタマゴからふ化した1齢幼虫は時期的に水中の農薬汚染に暴露される可能性が高いことが分かった。1齢幼虫の化学物質に対する感受性はことさらに高いため、水中の農薬類汚染時期をトンボ（成虫）で過ごす種といえども種の存続は高いリスクにさらされる。

一方、殺虫剤の空中散布時期に継代飼育によって得たイトトンボをケージに入れ薬剤が空中散布される水田地帯（つくば市）に設置した調査においてもトンボは短時間で死亡するなど陸上でのリスクも無視できないことが分かった。

田園地帯を流下する梶無川（図1、右下）や酒沼川（茨城県、北部）の生物調査においても、農薬類の汚染時期（殺虫剤ではフェノブカルブ、ダイアジノン、フェンチオンなど）を経過する間に殺虫剤耐性が著しいコガタシマトビケラの生息密度は変化を受けないか、むしろ増加する傾向を示した。一方、農薬類に対して比較的耐性があるにせよコガタシマトビケラほど強くない（表8）ウルマーシマトビケラやウスバヒメガガンボの生息密度は減少した。フェンチオンとフェノブカルブのウルマーシマトビケラに対する半数出巢濃度は（48時間）は8 μg/lと3 μg/lと環境中でも検出される濃度であり、これらの相加的影響（図15）まで考慮すると農薬類の水生生物群集に及ぼす影響は感受性種以外にも及んでいる可能性が高い。

現在使用されている農薬類の種類（数十年前と比べ、低毒性になったとされる）やそれらの環境中濃度では、魚類に急性致命的な影響が及ぶ可能性は低いであろう。しかし、我々の様々な調査・研究を通し農薬類の単独、または複合汚染により生態系を支える様々な水生生物、なかでも高感受性の水生昆虫にとっては、現在の農薬汚染レベル（種類・濃度・複合影響・暴露期間などが関与）でも持続的な生存が脅かされている可能性があることが明らかとなった。

## 2.2 湖沼生態系に対する農薬の生態影響評価

水が滞っている湖沼の環境は、常に一定方向に水が流れている河川環境とは大きく異なる。そこに住んでいる生物も、河川では底生生物が中心であるが、湖沼では水中に浮遊して生活しているプランクトンが中心となっている。湖沼では、生態系を支える1次生産者は植物プランクトンと呼ばれている緑藻、珪藻、ラン藻などの藻類であり、それを餌とする1次消費者（2次生産者）は、原生動物、ワムシ類、小型甲殻類などからなる動物プランクトンによって占められている。したがって、動植物プランクトンは湖沼生態系の低次生産者の中心であり、現存量は最も多い。

動植物プランクトンの多くは、一方で、農薬などの汚染物質に対し感受性が高く、その影響を受けやすい。したがって、もしこれらプランクトンが汚染物質の影響を受けると、その影響はこの低次生産者によって支えられている他の生物群集にも及び、ひいては生態系全体に広がることになる。

そこで我々は、農薬のプランクトン群集への影響の解明を主要な研究テーマとした。

プランクトン群集には実に様々な生物種が含まれ、それらは、食う-食われる関係や餌を介した競争関係などを通じた複雑な相互作用を保ちながら群集を維持している。農薬が一部の感受性の高い生物種に影響を与えただけでも、その影響は生物間相互作用を介して群集全体へ及ぶものと考えられる。そこで、農薬の生物群集への影響を解明するためには、農薬に対し感受性の高い種（農薬の直接影響を受けやすい種）を見だし、それと共に生物間相互作用を介した群集全体への影響を解析することが必要となる。

ここでは、殺虫剤と除草剤に対する感受性の生物種間差を調べ、これら農薬の生物間相互作用への影響を実験的に解析し、さらには実験水槽を用いてプランクトン群集全体への影響の解明を試みた。

### 2.2.1 殺虫剤に対する感受性の種間差

後述するように、プランクトン群集全体への殺虫剤影響を調べるために、実験水槽に様々な濃度のカルバリル（カーバメイト系殺虫剤）を投与してプランクトン群集の変動を調べた。そこでは、殺虫剤投与直後の個体群の崩壊を引き起こすカルバリル濃度が動物プランクトンの種（またはグループ）によって異なり（表10）、この結

表10 実験水槽で用いられた殺虫剤濃度と、それによって個体群が明らかにダメージを受けた動物プランクトン種またはグループ

殺虫剤 (μg/l)	動物プランクトン種 またはグループ
カルバリル	
10	カプトミジンコ
100	カプトミジンコ スカンタマミジンコ オナガミジンコ
500	全枝角類 (全ミジンコ類) ハネウデワムシ カイアシ類
1000	全動物プランクトン
フェンチオン	
50	カプトミジンコ
500	全枝角類

果から、動物プランクトン種間の殺虫剤感受性の違いが明らかとなった。それを大きくグループでまとめると、感受性の高い順に：

枝角類（ミジンコ類） > カイアシ類 ≥ ワムシ類  
となる。また、枝角類の中で属間で比較すると：

$Daphnia > Moina \cdot Diaphanosoma > Bosmina$   
( $Daphnia$ =ミジンコ； $Moina$ =タマミジンコ；  
 $Diaphanosoma$ =オナガミジンコ； $Bosmina$ =ゾウミジ  
ンコ)

となった。枝角類はワムシ類より大きく、また枝角類の中では大きい方から  $Daphnia - Moina - Diaphanosoma - Bosmina$  の順となる。したがって、大きい動物プランクトンほどカルバリルに対して感受性が高い傾向にあるといえそうだ。同様の感受性の種（グループ）間差が、有機リン系殺虫剤のフェンチオンを用いた実験でも得られた。

実験水槽によく現れる枝角類3種 [マギレミジンコ ( $Daphnia ambigua$ )、カプトミジンコ ( $Daphnia galeata$ )、スカンタマミジンコ ( $Moina micrura$ )] を用いて、カルバリルに対する感受性の違いを、慢性毒性試験を行って調べた。マギレミジンコが最も感受性が高く、2 μg/lのカルバリルで生存率が顕著に低下し、3 μg/l

では生後4日までにすべてが死亡した(図21)。カブトミジンコは10  $\mu\text{g/l}$ までは成長し、10日目の生存率50%以上であった。しかし、15  $\mu\text{g/l}$ では急速に死亡率が上昇し、3日目までにすべての個体が卵をつくることなく死亡した。スカシタマミジンコの耐性が最も高く、15  $\mu\text{g/l}$ においても、生存率は低下したが産仔が観察された。しかし、20  $\mu\text{g/l}$ では2日目までに死滅した。これら3種の枝角類のカルバリルに対する感受性の違いは、実験水槽で得られた結果をよく反映していた。

## 2.2.2 生物間相互作用に及ぼす殺虫剤影響

### (1) ミジンコの生活史特性に及ぼす捕食者の放出する化学物質と殺虫剤の複合影響

動物プランクトンの捕食者であるフサカ(双翅目昆虫)の幼虫(口絵参照)は、水中に化学物質(臭い)を放出しており、食われる立場のミジンコ(*Daphnia*の仲間)がこれを感知して形態を変化させることが知られている。例えばミジンコ(*Daphnia pulex*)は後頭部突起

(Neckteeth)を形成し、マギレミジンコは頭を尖らす(図22)。これらの構造は、フサカによるミジンコの捕食を妨げる効果を持つことから、この形態変化は、捕食者から逃れるためのミジンコの適応の結果と考えられている。フサカの放出する化学物質の化学構造は、まだ明らかにされていないが、化学物質の放出者(フサカ)よりもそれを受け取ったもの(ミジンコ)が主に利益を得ることから、カイロモンと呼ばれている。

フサカのカイロモンに対するミジンコの反応には、しかしながら、代償がある。恐らくこの反応にはエネルギーを要するために、ミジンコは様々な生活史特性(成長速度、成熟時間、抱卵数、生存率など)を変化させ、結果として個体群の増殖速度の低下を来す。

このように、フサカのカイロモンはミジンコの増殖に悪影響をもたらす。殺虫剤もまた、ミジンコの増殖を抑制する作用をもつ。したがって、捕食者フサカの共存する環境で(カイロモンがある環境で)ミジンコが殺虫剤にさらされると、殺虫剤影響をより強く受けることになるという仮説を立てた。

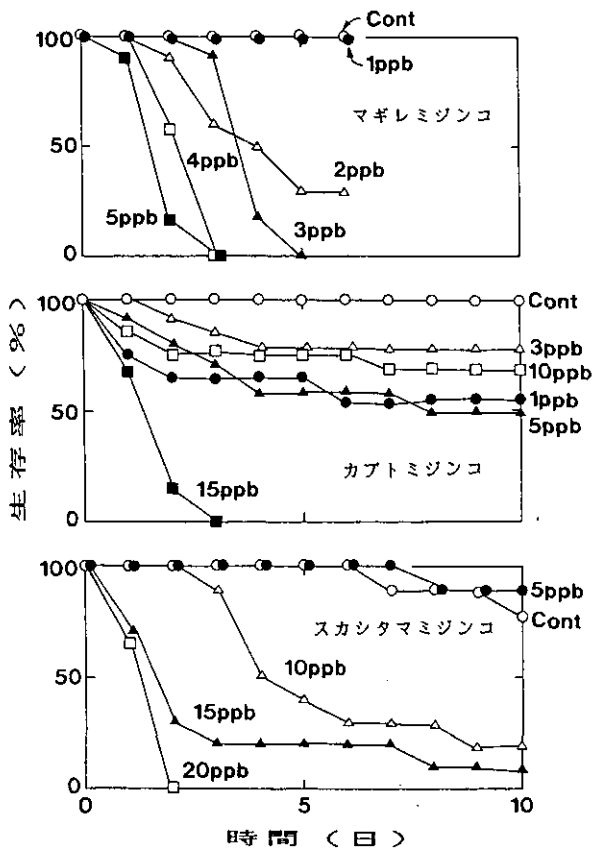


図21 異なる濃度のカルバリルにさらされたときの、三種の枝角類 [マギレミジンコ (*Daphnia ambigua*), カブトミジンコ (*Daphnia galeata*), スカシタマミジンコ (*Moina micrura*)] の生存率の変化

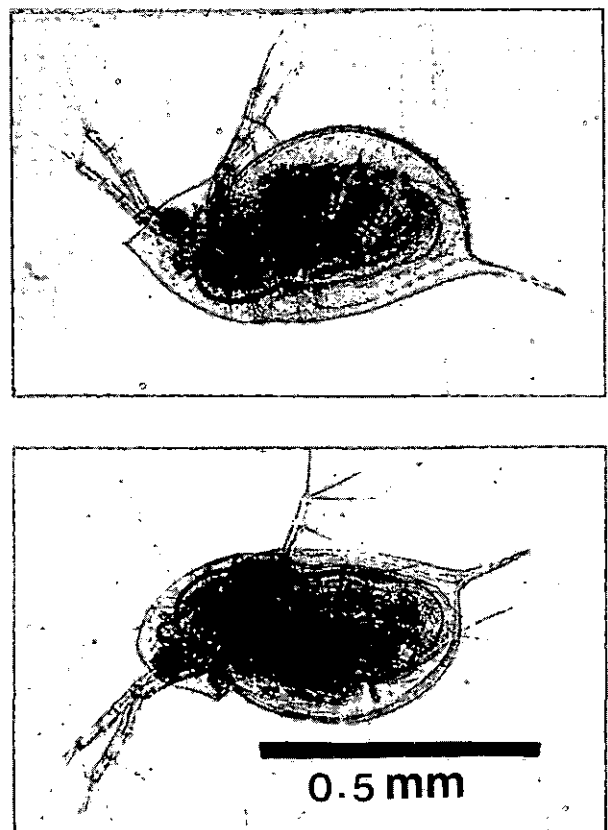


図22 フサカの放出する化学物質(カイロモン)に反応したマギレミジンコ (*Daphnia ambigua*) の形態変化。下は通常の形態、上は変化を起こした形態。

この仮説を調べるために、ミジンコ (*D. pulex*) を、フサカのカイロモンと殺虫剤カルバリル (0, 5, 10, 15, 20  $\mu\text{g/l}$ ) にさらして、成長や産仔を観察した。カイロモンを含んだ飼育水を作るために、ばっ気して塩素を除いた上水の中で、4 齢のフサカ幼虫を 10 個体/l の密度で 4 日間飼育し、それを孔径約 1  $\mu\text{m}$  の GF/C フィルターでろ過した水を飼育水 (フサカ水) とした。対照として、フサカを飼育していないばっ気上水を用いた (対照水)。実験では、これら飼育水に餌 (緑藻のセレストラム,  $2 \times 10^5$  cells/ml) とカルバリルを加え、これを用いてミジンコを飼育した。

カイロモンを含まない対照水では、5~10  $\mu\text{g/l}$  のカルバリルにさらされたミジンコの成長は、カルバリルにさらされなかった (0  $\mu\text{g/l}$  カルバリル処理) ミジンコのそれと差がなく、顕著な成長阻害は 15  $\mu\text{g/l}$  カルバリルで見られた (図 23)。一方、フサカ水で飼育されたミジンコは、5~10  $\mu\text{g/l}$  のカルバリル処理でも顕著な成長阻害が観察された。

また、5~10  $\mu\text{g/l}$  のカルバリル処理は、対照水中ではミジンコの成熟時間や成熟サイズに影響を与えなかったが、フサカ水中では統計的に有意に成熟時間の遅延および成熟サイズの低下を引き起こした (図 24)。この結果、これら低濃度のカルバリルにさらされたミジンコは、対照水に比べて、フサカ水で飼育されたときにより顕著に個体群増殖速度を低下させることになった。

これらの結果は、フサカのカイロモンが存在すると、ミジンコは殺虫剤の影響を受けやすくなることを示している。つまり、カイロモンがミジンコの殺虫剤耐性を低下させたことになり、仮説を支持する結果となった。

その理由として以下の二つの要因が考えられる。一つは、カイロモンはミジンコに対し脱皮を経て形態を大きく変化させる作用があることで、その時、ミジンコは殺虫剤からのダメージを受けやすくなると思われる。もう一つは、カイロモンがミジンコの幼体の脱皮間隔を延ばすことで、これは殺虫剤に対し感受性の高い幼体が、より長く殺虫剤にさらされる結果を導く。

## (2) ミジンコに及ぼすカイロモン、貧酸素、殺虫剤の複合影響

前の実験では、フサカのカイロモンとカルバリルが、ミジンコに複合的な影響を与えることが明らかとなった。次にはこれをさらに発展させて、カイロモン、貧酸素、

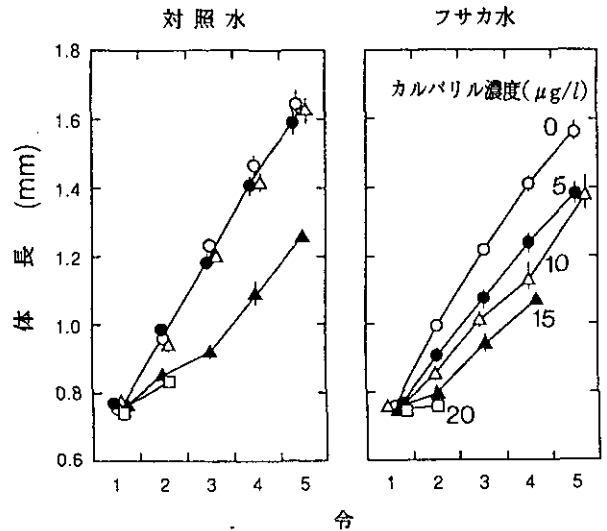


図 23 異なる濃度のカルバリル (0, 5, 10, 15, 20  $\mu\text{g/l}$ ) を含んだ対照水 (フサカのカイロモンを含まない) とフサカ水 (カイロモンを含む) で飼育されたミジンコ (*Daphnia pulex*) の成長。縦棒は標準誤差 (SE) を示す。

殺虫剤の複合影響を *D. pulex* を用いて実験的に調べた。貧酸素層は富栄養化した池や湖でしばしば発達し、その層内での動物プランクトンの生存を脅かす。したがって、これもまたミジンコにとっての環境ストレスとなっている。ミジンコの場合、水中の酸素濃度が低下すると、ヘモグロビンを作って貧酸素に耐えるが、それでもたぶんヘモグロビンを作ることにエネルギーを消費する結果、ミジンコの成長などに悪影響が及ぶものと考えられる。

実験では、 $\text{N}_2$  ガスを用いて、低酸素濃度 ( $< 3 \text{ mg O}_2/\text{l}$ ) の対照水 (カイロモンを含まない水) やフサカ水 (カイロモンを含む水) を作り、それにカルバリル (0, 5, 10, 15, 20  $\mu\text{g/l}$ ) を加え、ミジンコを飼育した。結果は、3 種類の要因、それぞれがミジンコの成長速度の低下、成熟時間の遅延、成熟サイズの低下、抱卵数の低下など、増殖速度を低下させるように働いた。またそれらの要因のうち、いずれの二つのペアでも、また三つすべてについても統計的に相乗影響が認められた。このことはすなわち、いずれの要因も他の要因に対するミジンコの耐性を低下させる作用のあることを意味する。三つの要因を様々な組み合わせた条件下で飼育されたミジンコの抱卵数と体長を比較すると、飼育の条件にかかわらず、両者には顕著な正の相関がみられた (図 25)。また、同様に親の体長と仔虫サイズの間にも正の相関が得られた。これらのことは、抱卵数や仔虫サイズは親のサイズに直接的に依存し、親のサイズ (成熟サイズ) は

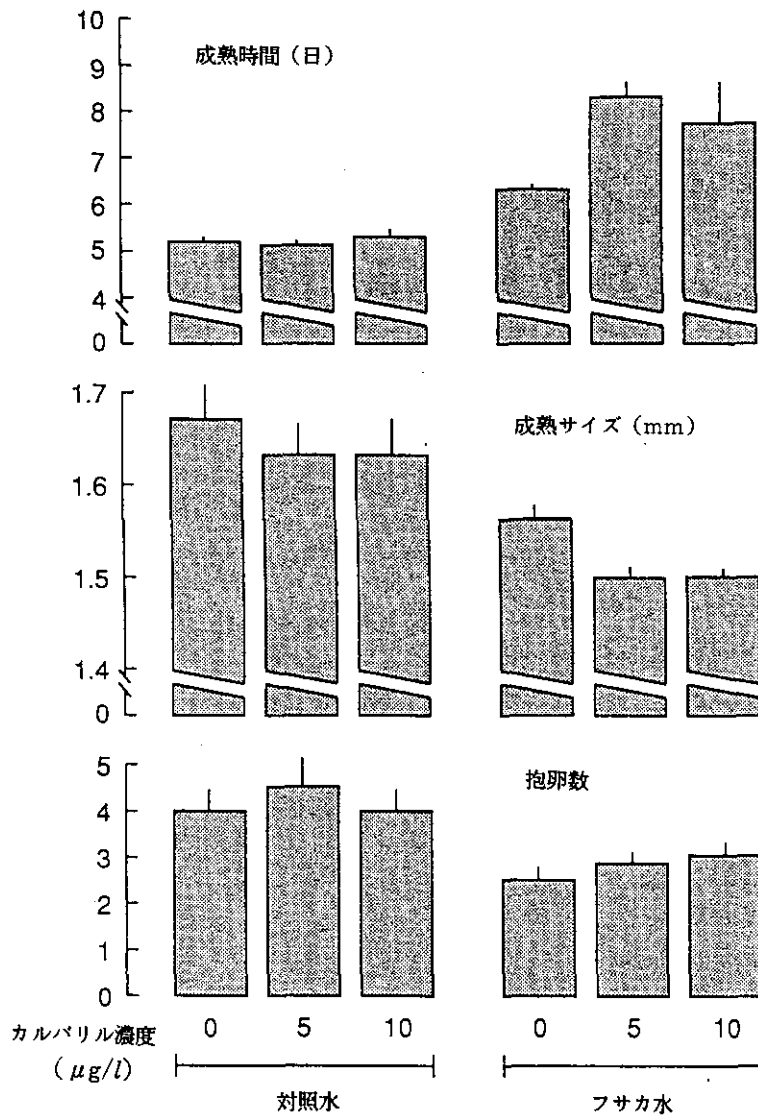


図24 異なった濃度のカルバリル (0, 5, 10 µg/l) を含んだ対照水 (フサカのカイロモンを含まない) とフサカ水 (カイロモンを含む) で飼育されたミジンコ (*Daphnia pulex*) の成熟時間 (生まれてから最初の抱卵までに要した時間), 成熟サイズ (最初の抱卵をしたときのサイズ), および最初の抱卵数  
縦棒は標準誤差 (SE) を示す。

幼体時の成長速度に影響されることを示している。すなわち、幼体時に成長速度が低いと、親の成熟サイズが小さくなって抱卵数が低下し、小さな仔虫を産むことになる。カイロモン、貧酸素、カルバリルにさらされたミジンコは、成熟サイズ、抱卵数、仔虫サイズを低下させたが、どの要因もこれらのパラメータに直接影響を与えたのではなく、幼体時の成長に影響を与え、成長速度を落としたのが第一義的な影響と考えられる。

この実験の結果は、室内において好条件下 (高酸素濃度、カイロモンなし、好餌条件など) で飼われたミジンコに対する有害化学物質の毒性試験の結果を、野外で様々な環境ストレスのもとでその化学物質にさらされているミジンコ個体群に適応すると、その毒性影響を過小評価

する可能性のあることを示している。

### (3) ミジンコの形態変化に影響を与える要因としての殺虫剤

我々は、殺虫剤カルバリルがマギレミジンコの尖頭形成を誘導することを発見した。

ミジンコ成体は脱皮後まもなく卵を背中の育房に生み出す。生み出された卵は育房の中で発育し、親と同じ姿にまで成長してから、親が脱皮をする少し前に親の体外に泳ぎ出る。この卵 (胚) 発生の最終ステージから1齢にかけての時期に、マギレミジンコを短時間 (10時間)、比較的高い濃度 (5 µg/l) のカルバリルにさらしたとき、脱皮を経て2齢で顕著な尖頭を形成した。この尖頭

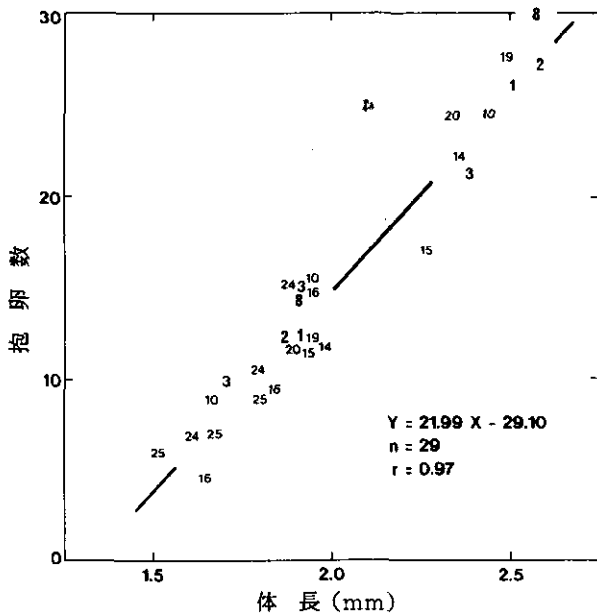


図25 フサカのカイロモン (K), 溶存酸素濃度 [極低酸素濃度; 1~2mg O<sub>2</sub>/l (LL), 低酸素濃度; 2~3mg O<sub>2</sub>/l (L), 高酸素濃度; 6~9mg O<sub>2</sub>/l (H)], および殺虫剤 (カルバリル; C) を組み合わせた条件下で飼育されたミジンコ (*Daphnia pulex*) の体長と抱卵数の関係  
 図中の数字は飼育条件を指す。  
 1と14: H, 2と19: L, 3: LL, 8: H+K, 10: L+K, 15: H+C (5 μg/l), 16: H+C (10 μg/l), 20: L+C (5 μg/l), 24: H+K+C (5 μg/l), 25: L+K+C (5 μg/l)

の誘導は、カルバリル以外の殺虫剤、フェノブカルブ (カーバメイト系殺虫剤), テメフォス, ダイアジノン, フェニトロチオン (有機リン系殺虫剤) でも見られた。しかしながら、除草剤や殺菌剤ではそれが見られなかった。これら殺虫剤はすべて動物の神経系阻害剤であるこ

とから、ミジンコの神経系への何らかの刺激が、形態変化を引き起こしたものと考えられる。

同様の現象がマギレミジンコ以外のミジンコでも見られるかどうかを調べるために、捕食者のカイロモンに反応して形態変化をすることが知られている4種のミジンコ (*D. pulex*, *D. galeata mendotae*, *D. retrocurva*, *D. lumholtzi*; 図26) を、マギレミジンコの実験同様、胚発生最終ステージから1齢にかけての短時間高濃度のカルバリルにさらした。その結果、後頭部突起、尖頭の伸長、殻刺の伸長などが観察された。これらの形態変化は、それぞれのミジンコの捕食者カイロモンに対する反応とよく似ていた。このことから、進化の過程で、捕食者カイロモンに対する反応として発達させてきた形態的反応が、殺虫剤による何らかの刺激で引き起こされたものと考えられる。またこの殺虫剤による形態変化の誘導は、捕食者カイロモンに反応して形態を変化させるミジンコの間では、一般的なもののように思われる。

ここで、殺虫剤がミジンコの形態変化を誘導することが明らかとなったが、その条件は限られている。すなわち、形態変化が誘導されるには、ミジンコがある限られた成育段階に短時間、比較的高濃度の殺虫剤にさらされなければならない。このような状況は、自然の環境下ではあまり期待できないように思われる。では、自然環境下で、ミジンコの形態変化が殺虫剤によって誘導されることはないのだろうか？

先にミジンコ (*D. pulex*) をフサカのカイロモンとカルバリルの両方に同時にさらした実験について紹介し

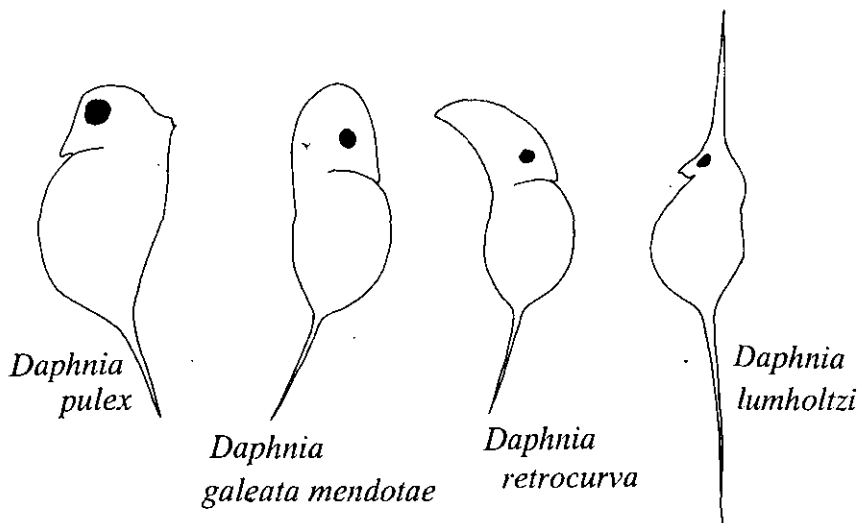


図26 カルバリル短時間暴露で形態変化が誘導されたミジンコ

た。この実験では、ミジンコの成長や産仔の観察と同時に、ミジンコの形態変化についても調べた。このミジンコでは、フサカ水（カイロモンを含んだ水）で飼育すると、1齢と2齢で顕著な後頭部突起を形成し、3齢ではそれを失った。ところが、カルバリル（5～15  $\mu\text{g/l}$ ）を含んだフサカ水で飼育されたミジンコは、この後頭部突起を3齢や4齢でも維持した（図27）。この結果は、低濃度のカルバリルに長時間さらされていても、もしカイロモンがあるならば、殺虫剤はミジンコの形態に影響を与えることを示している。これは、カイロモンとカルバリルの相乗影響の結果と考えられる。ちなみに、この実験で、カイロモンを含まない対照水中でカルバリルにさらされたミジンコは、決して後頭部突起を作らなかった。したがって、低濃度の殺虫剤だけではミジンコの形態変化の誘導は起こらないことを示している。

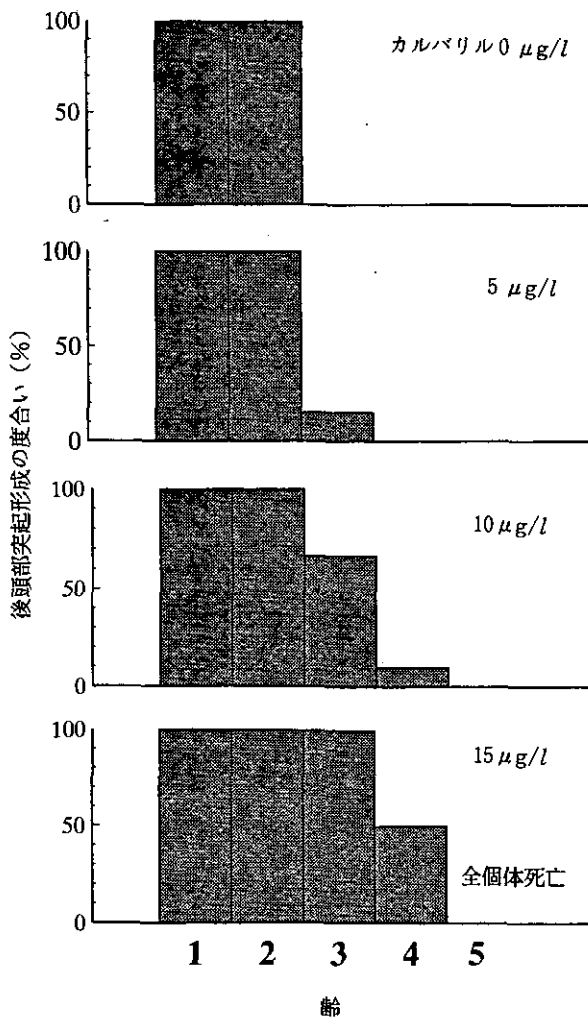


図27 異なる濃度のカルバリル（0, 5, 10, 15  $\mu\text{g/l}$ ）を含んだフサカ水（カイロモンを含む）で飼育されたときの、ミジンコ（*Daphnia pulex*）1～5 齢の後頭部突起（Neckteeth）形成の度合い（%）

形態変化に及ぼすカイロモンとカルバリルの複合影響をマギレミジンコにおいても調べてみた。このミジンコは、カイロモン濃度に依存して尖頭のサイズを変えるので、2種の化学物質の複合影響を解析しやすい利点があった。このミジンコにおいても、カイロモンだけにさらされたときよりも、カイロモンと殺虫剤（1～5  $\mu\text{g/l}$ ）に同時にさらされたときの方がより高い尖頭が形成され、2種の化学物質の複合影響の存在が示された（図28）。しかしながら、最も顕著な尖頭を形成した2齢個体において、これら化学物質の複合影響を調べた結果、2種の化学物質の間に有意な相乗作用は認められなかった。少なくともこの場合では、2種の化学物質は相加的に作用したということになる。

殺虫剤によって形成が誘導されたミジンコの後頭部突起や尖頭は、捕食者によるミジンコの捕食成功率を低下させる効果があることから、殺虫剤はミジンコに形態変化を促すことによって、捕食者—被食者関係に影響を与えるということができよう。

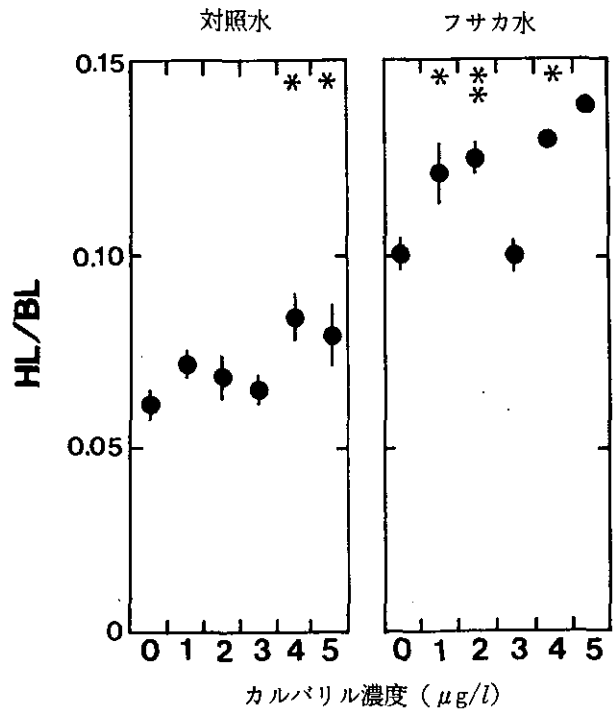


図28 異なる濃度のカルバリル（0, 1, 2, 3, 4, 5  $\mu\text{g/l}$ ）を含んだ対照水（フサカのカイロモンを含まない）とフサカ水（カイロモンを含む）で飼育されたときの、マギレミジンコ（*Daphnia ambigua*）2 齢の頭長：体長比（HL/BL）  
縦棒は標準誤差（SE）を示す。アスタリクスは各飼育水で0  $\mu\text{g/l}$ カルバリル処理と各処理との間の統計的有意差を示す。  
\*： $P < 0.05$ , \*\*： $P < 0.01$



#### (4) ミジンコの行動に及ぼす殺虫剤影響

ミジンコ (*D. pulex*) 成体をカルバリルにさらし、行動の変化を解析した。解析にはビデオカメラを用い、三次元方向からミジンコの行動を記録し、デジタイザーを用いて解析した。致死濃度のカルバリル (40  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) にさらされると、ミジンコはくるくると回転行動を起こした。それよりはるかに低濃度の 1  $\mu\text{g}/\text{l}$  カルバリルでも、ミジンコの跳ね上がる頻度や角度に異常が検出された。100  $\mu\text{g}/\text{l}$  カルバリルに短時間さらされてくるくる回転しているミジンコと、行動の正常なミジンコを、各 1 個体ずつ魚 (ブルーギル) の入った水槽に入れ、魚がどちらのミジンコを先に捕食するかを観察した。全体で 42 回の試験を行ったうち、31 回の試験で、回転しているミジンコが先に捕食された (表11)。これは、異常な行動を示しているミジンコが、魚の注意を引いたために選択的に食べられたものと考えられる。ミジンコの異常な行動は、上述したように極めて低濃度のカルバリルでも誘導された。このことは、致死濃度以下の低濃度の殺虫剤でも、ミジンコに異常な行動を起こさせ、ミジンコを捕食者に食われやすくすることを示唆している。すなわち、これもまた、低濃度の殺虫剤が捕食者-被食者関係に影響を与えることを示した例といえる。そして、それが間接的にミジンコの個体群動態に影響を及ぼす可能性がある。

表11 カルバリルに暴露され回転行動を起こしているミジンコ (*Daphnia pulex*) と正常なミジンコ (各 1 個体) を同時に与えたときの魚 (ブルーギル) の選択捕食  
10リットルの暴気上水の入った水槽に体長約70mmの魚を1個体入れ、そこにピペットを使ってミジンコを投与した。実験は、3個体の魚を用い、それぞれについて14回の試験を行った。

魚 (No.)	先に食われたミジンコ		試験回数
	カルバリル処理 (回転行動)	カルバリル無処理 (正常)	
1	10	4	14
2	11	3	14
3	10	4	14
合計	31	11	42

合計の値のカイ2乗検定値は5.05で、これは $p < 0.025$ で統計的に有意

#### 2.2.3 プランクトン群集に及ぼす殺虫剤影響の実験水槽を用いた解析

##### (1) 実験生態系の作製

実験生態系を作るために、屋外に設置されたコンクリート水槽 (2 m  $\times$  1.5 m  $\times$  0.7 m) を用いた。前実験の影響をなくすために、実験ごとに水槽の内側をポリエチレンフィルムで裏打ちした。実験開始時には、霞ヶ浦から採取した底泥 (休眠状態の動植物プランクトンを含んでいる) 5 kg を投入し、地下水を水深 0.5 m まで満たした。水槽内の水量は 1.5 トンになる。水槽内には、水深 0.5 m のところに、水がオーバーフローするように排水管がついており、降水により水量が増えたときには、余分な水は流れだし、水位は常に一定に保たれた。

水槽に水を満たすと、水槽内には底泥由来の動植物プランクトンが増え、霞ヶ浦に似たプランクトン群集が形成された。この方法によるプランクトン群集の再現性はよく、農薬処理をしない水槽では常に決まったプランクトン群集の遷移が観察された。すなわち、まず植物プランクトンがすぐに増殖して、実験開始後 1 週間以内に現存量のピークが現れた。その現存量はワムシ類 [主にツボワムシ (*Brachionus calyciflorus*) とコシボソカメノコウワムシ (*Keratella valga*)] の増加とともに減少し (ワムシによる摂食の結果)、次にワムシ類は小型の枝角類 [ニセゾウミジンコ (*Bosmina fatalis*), スカシタマミジンコ (*Moina micrura*), オナガミジンコ (*Diaphanosoma brachyurum*)] に取って替わられた (競争の結果)。これら小型枝角類も最後には大型枝角類のカブトミジンコ (*Daphnia galeata*) が増えるとほとんど姿を消した。カブトミジンコはこの動物プランクトン群集の中では最も優位にある競争者で、このミジンコがいったん優占すると、その優占は実験終了時まで維持された。

##### (2) 異なった暴露時間の殺虫剤処理に対する動物プランクトン群集の反応

殺虫剤は種類によって性質が異なる。一つの重要な性質に、水中での分解速度がある。分解速度の異なる殺虫剤が湖水中に入った場合、その生物群集に対し直接に影響を与える時間が異なることになり、したがって生態系影響も異なると予想された。この影響を評価するためには異なった分解速度を持つ殺虫剤を用いて実験することが考えられたが、異なった殺虫剤は、毒性や吸着性な

ど、分解速度以外の要因も必ずしも同じでなく、得られた結果の評価が難しくなるものと思われた。そこで分解の速いカルバリルのみを用いて、それを一回投与及び連続投与することにより、分解速度の速い薬剤と遅い薬剤が投与された状態をつくり、その動物プランクトン群集への影響を調べた。ちなみに、カルバリルは、実験水槽内で水温約 20℃ のときに、1.18 日で投与された薬剤の 90% が分解消失した。

実験では、カルバリルを 100  $\mu\text{g/l}$  と 500  $\mu\text{g/l}$  の濃度で、水槽に 1 回または連続投与（一日置きに 10 回）した。1 回投与した水槽では、枝角類が直接のダメージを受けて 1 次的に個体群の崩壊を起こしたが、カルバリルの分解が速いためすぐに回復し、再び枝角類が動物プランクトン群集を優占するようになった。連続投与した水槽では、カルバリルによって壊された枝角類群集の回復は長い間抑制され、枝角類との競争関係で劣勢にあったワムシ類が替わって増えて優占する水界がつくられた（図 29）。これらの結果は、水槽において投与された薬剤の残留時間が異なると、動物プランクトン群集の回復パ

ターンが異なることを示しており、ひいては分解速度の違う薬剤が投与された場合、異なった動物プランクトン群集が形成されることを示唆している。

### (3) 動植物プランクトン群集に及ぼす殺虫剤フェンチオンの影響

前実験の結果をさらに確かめるために、カルバリルより分解速度の遅い有機リン系殺虫剤フェンチオンを用いて、動植物プランクトン群集への影響を調べた。

実験ではフェンチオン（市販されている粒剤を使用）を 50  $\mu\text{g/l}$  と 500  $\mu\text{g/l}$  の濃度になるように 1 回投与した。投与直後のフェンチオンの濃度は、高濃度および低濃度処理区で、それぞれおよそ 20 および 200  $\mu\text{g/l}$  となり、目的濃度の 40% 程度となった。これは粒剤中の担体に吸着しているフェンチオンが少しずつ溶け出したためと思われる。薬剤の水中濃度は徐々に低下し、投与後 40～54 日に投与時の薬剤の 90% が消失した。低濃度処理水槽では大型のカプトミジンコ個体群が崩壊し、高濃度処理水槽ではほとんどの枝角類が姿を消した。枝角

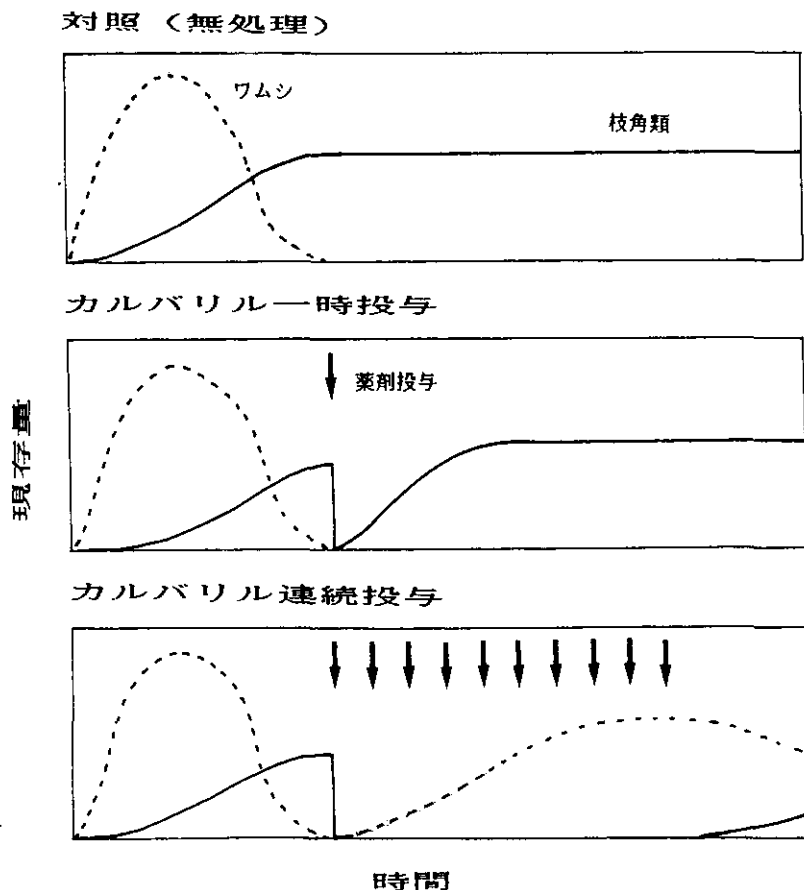


図 29 実験水槽にカルバリル一時投与と連続投与（一日置き 10 回）を行ったときの、動物プランクトン群集の変動の模式図  
縦の矢印が薬剤投与時期を示す。投与されたカルバリル濃度は 100  $\mu\text{g/l}$  と 500  $\mu\text{g/l}$  の二段階。

類の回復は大幅に遅れ、その間、ワムシ類の増殖が観察された(図30)。また、薬剤投与後には、植物プランクトン〔主に緑藻のモノラフィディウム(*Monoraphidium*)とクリプト藻〕の現存量の増加も引き起こされた。これらの結果は、植物プランクトンの効率的な捕食者であり、またワムシ類の優位の競争者である枝角類がフェンチオンによって抑えられた結果であり、これはプランクトン群集に及ぼす殺虫剤の2次的影響ということになる。

本実験では、比較的分解速度の遅いフェンチオンを投与した後にワムシ類の増殖が観察された。これは前実験での仮説を支持している。また、フェンチオンに対し大

型枝角類のカプトミジンコが最も感受性が高く、中型枝角類のスカタマミジンコとオナガミジンコがそれに続き、小型枝角類のニセゾウミジンコとワムシ類が最も耐性の高いことが示された。

#### (4) 動物プランクトン群集への殺虫剤影響に及ぼす捕食者フサカの影響

動物プランクトン群集の構成員が異なると、つまり動物プランクトン群集構造が異なると、群集への殺虫剤影響が異なるものと考えられる。捕食者による捕食作用は、動物プランクトン群集構造を決定する重要な要因の一つである。そこで、殺虫剤のプランクトン群集影響に捕食者の存在が影響を与えるものと考えられる。ここでは、殺虫剤のプランクトン群集影響に、ミジンコの捕食者フサカ幼虫がいかに関与するかを調べた。

実験では、フサカ幼虫が生息しない水槽と、高い密度で生息する水槽を作り、そこに2濃度(10 $\mu\text{g/l}$ と100 $\mu\text{g/l}$ )のカルバリルを連続的に投与して(一日置き10回)、動物プランクトン群集の変動を観察した。フサカ幼虫のいない水槽では枝角類が優占していた。対照(薬剤を投与しない)水槽では大型のカプトミジンコが優占し、低濃度処理水槽では中型のスカタマミジンコとオナガミジンコが増え、高濃度処理水槽では小型のニセゾウミジンコが優占種となった(図31)。これらの結果は、枝角類の中でもカルバリルに対し感受性に種間差のあることを示しており、それはフェンチオンに対する感受性の種間差と同じであった。これについては、2.2.1でふれた。

フサカ幼虫の多く生息する水槽では、ワムシ類が優占した(図31)。これは、フサカ幼虫がワムシ類の競争者である枝角類を選択的に捕食したために、競争者が減ったことが理由である。フサカ幼虫の多い水槽では、対照の水槽と低濃度処理水槽の間で動物プランクトン群集に顕著な違いは見られなかった。これは、カルバリルに対し感受性の高い枝角類が少なく、逆に耐性の高いワムシ類が優占していたことが原因である。結果的には、枝角類の捕食者としてのフサカ幼虫が動物プランクトン群集構造を変えて、殺虫剤に対する群集の反応を大きく変化させることになった。ただし、高濃度処理されたフサカ幼虫の多い水槽では、対照の水槽とはワムシ群集の種構成が異なった。対照水槽ではハネウデワムシ(*Polyarthra trigla*)が優占していたのに対し、高濃度

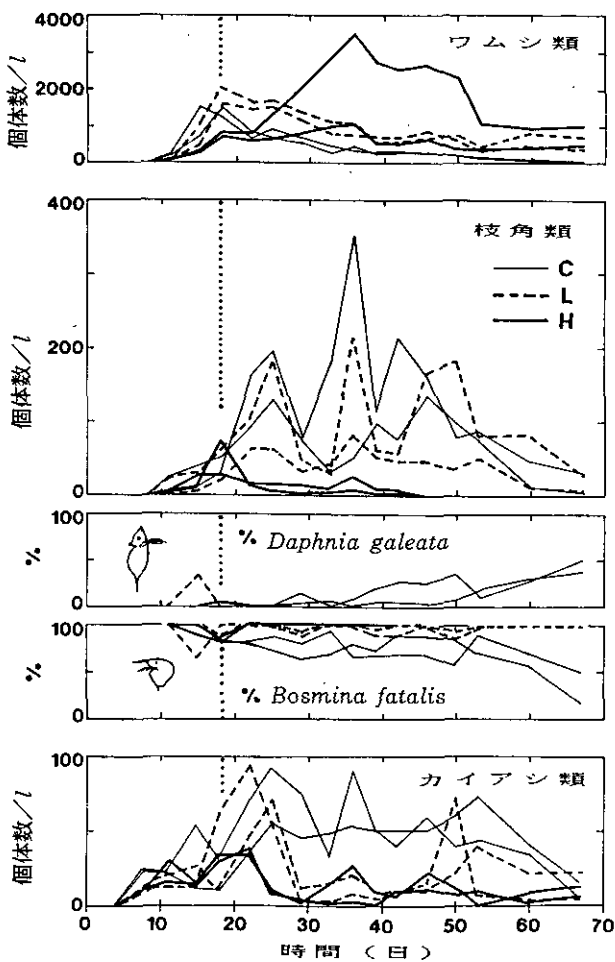


図30 実験水槽にフェンチオンを投与したときの動物プランクトン群集の変動(ワムシ類、枝角類、カイアシ類の密度変動、及び枝角類群集のカプトミジンコ(*Daphnia galeata*)とニセゾウミジンコ(*Bosmina fatalis*)の占める割合)  
縦線は薬剤投与時期を示す。C:対照区、L:低濃度区(50 $\mu\text{g/l}$ )、H:高濃度区(500 $\mu\text{g/l}$ )。

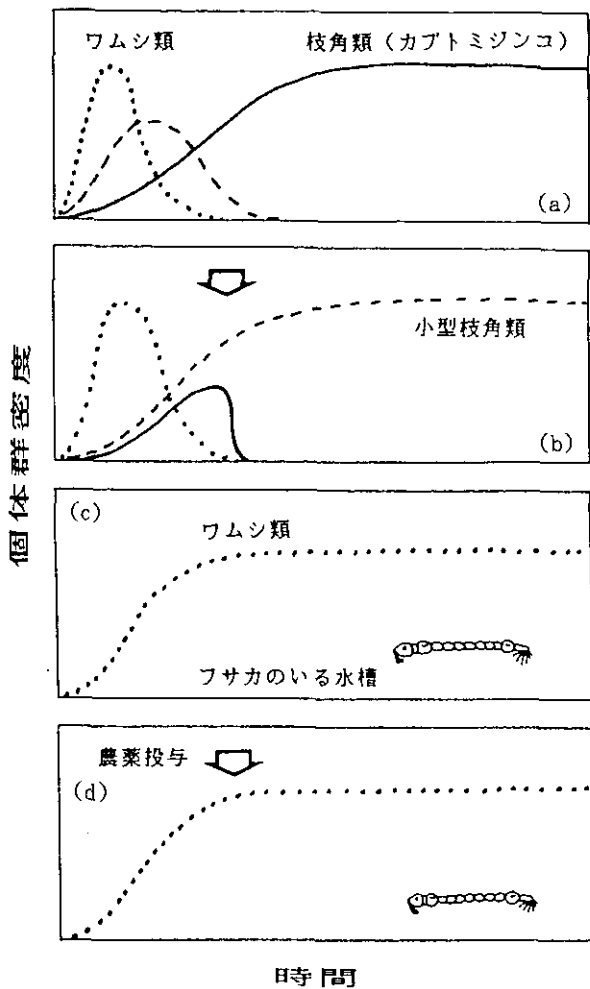


図31 フサカ幼虫のいない実験水槽とフサカの多い実験水槽にカルバリルを連続投与 ( $10\mu\text{g/l}$ と $100\mu\text{g/l}$ 、一日置き10回) したときの動物プランクトン群集の変動の模式図  
 a: フサカのいない対照 (無処理) 水槽, b: カルバリルを投与したフサカのいない水槽, c: フサカの多い対照 (無処理) 水槽, d: カルバリルを投与したフサカの多い水槽

処理水槽では、この種が減り、替わってコシボソカメノコウワムシ (*Keratella valga*) が優占種となった。これらワムシ類の間でも、カルバリルに対する感受性に違いがあったものと思われる。

(5) 植物プランクトン群集に及ぼす殺虫剤の繰り返し投与の影響

前述したように、植物プランクトンを餌とする動物プランクトンの殺虫剤に対する感受性は種によって異なり、大型の枝角類の感受性が最も高い。したがって殺虫剤によって種組成の異なる動物プランクトン群集が形成され、2次的に植物プランクトン群集の種組成を変えることが予測される。そこで殺虫剤が持続して存在するような系

を殺虫剤カルバリルの繰り返し投与によって作製し、植物プランクトン群集の種組成の変化を調べた。

実験開始直後から53日目まで週2回、 $0.5\text{mg/l}$ カルバリルを実験水槽に加えた。カルバリルは非常に速く分解するためこの期間中ほぼ $0.5\text{mg/l}$ のカルバリル濃度が維持された。この処理によって、殺虫剤処理水槽では殺虫剤に強いワムシの優占する比較的摂食圧の低い動物プランクトン群集が形成されたと言える。一方、無処理水槽では大型のカブトミジンコの優占する摂食圧の高い群集が形成された。

無処理水槽の植物プランクトン群集では実験初期に中心目珪藻、半ばにクロロコックム目緑藻、終盤にクリプト藻やボルボックス目緑藻が優占した (図32左側)。これに対して、殺虫剤処理水槽では植物プランクトン群集の現存量は無処理水槽より常に高く、実験期間中常にクロロコックム目緑藻が優占した (図32右側)。殺虫剤処理水槽ではワムシが優占したために摂食圧が低く、増殖速度の速いクロロコックム目緑藻がワムシの摂食を上回って増加したものと考えられる。つまり、殺虫剤処理によって明らかに植物プランクトン群集を構成する分類群が異なったと言える。

2.2.4 除草剤に対する藻類の感受性の種間差

植物プランクトン群集を構成する個々の藻類種の除草剤感受性を知ることは、除草剤にさらされた群集の反応を知る上で欠かせない。藻類において除草剤に対する感受性に種間差のあることが予想され、欧米で多くの研究が行われているが、ほとんどが主としてトウモロコシ畑で使用される除草剤アトラジンに関するもので、日本で使用されている除草剤に関するデータはほとんどない。また、様々な測定法が用いられており、多くの藻類種の感受性を比較するのが難しく、まだ新たな実験室レベルでの研究が必要であった。そこで日本で使用頻度や検出頻度の高い除草剤を選び、できるだけ同じ方法で感受性を比較し、藻類の種間あるいは分類群間の感受性に一定の傾向が見られるかどうかを検討した。また薬剤の効き方に藻類種間で違いあるかどうかについては、比較的よく検出される数種類の除草剤を用いて感受性の種間差を検討した。

(1) 分類群間の感受性の違い

除草剤としては、河川等で検出頻度の高いシメトリン

を選んだ。藻類培養株は湖沼のプランクトンとは限らず、水田、河川（除草剤が検出される時期と検出されなくなった時期）から分離した株や系統保存されている株を用いた。各種藻類の7日間培養後の増殖量を50%阻害する農

薬濃度（EC<sub>50</sub>）を図33に示した。

調べた全藻類のEC<sub>50</sub>値は6.5から1500 μg/lと非常に広い範囲に及び、藻類におけるシメトリン感受性の種間差が大きいことが分かった。ある一つの綱や目レベル

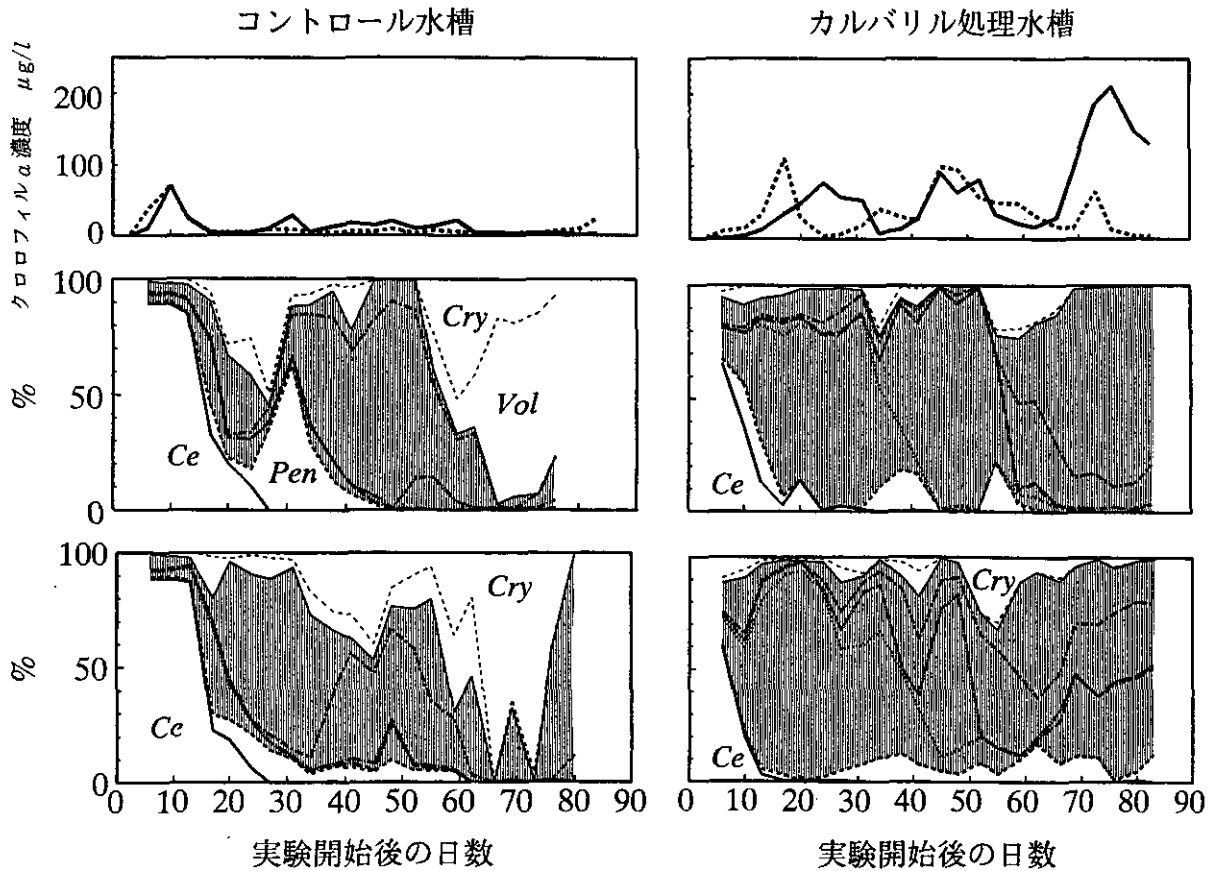


図32 殺虫剤カルバリルに連続的に暴露された植物プランクトン群集の種組成の変化

カルバリルは実験開始後6日目から53日目まで週二回投与した。クロロフィル濃度の図中の実線（種組成は中段の図）と点線（種組成は下段の図）は繰り返しを示す。影の部分：クロロコック目緑藻，Ce：中心目珪藻，Pen：羽状目珪藻，Cry：クリプト藻，Vol：ボルボックス目緑藻のそれぞれの占める割合を示す。

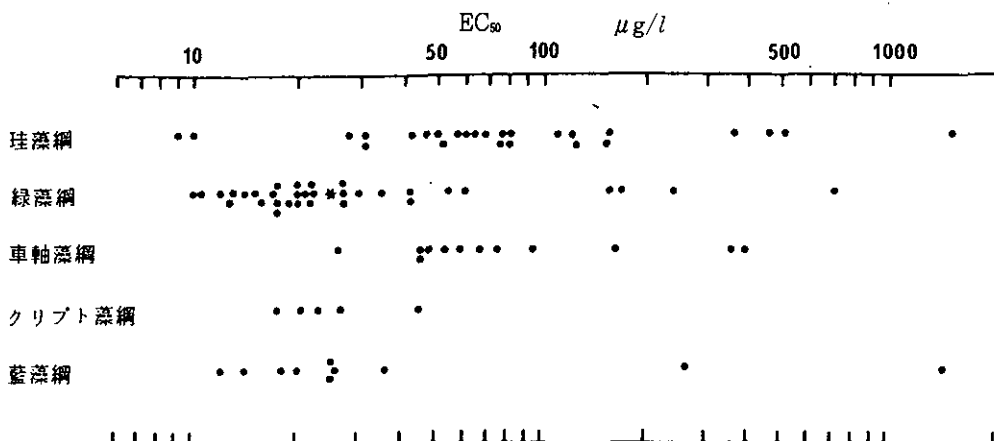


図33 様々な場所から分離した藻類の除草剤シメトリンに対する感受性

シメトリンのEC<sub>50</sub>値を分類群別に比較した。シメトリンを加えて7日間培養後の増殖量をシメトリンを加えないコントロール培養の増殖量と比べ、コントロール培養に対して50%増殖を阻害したシメトリン濃度をEC<sub>50</sub>値とした。図中の星印はセレナストルムの値を示す。

のEC<sub>50</sub>値の範囲も全藻類と同様の広い範囲を示した。このような広い範囲に及ぶ感受性の種間差は前述の除草剤アトラジンについても報告されている。

このように、感受性の種間差は非常に広範囲に及んだが、そのうちの多くの株が示す感受性には一定の傾向が見られた。つまり、ボルボックス目やクロロコックム目緑藻および藍藻は調べられた分類群中で最も感受性が高く鼓藻類や珪藻は感受性が低かった。アトラジンに対する感受性の種間差に関しても鼓藻類を除く緑藻や藍藻が感受性が高いと報告されているが、珪藻については浮遊性と底生の種の間で感受性が異なることが報告されている。

## (2) 作用機作の異なる除草剤に対する感受性

ある一種類の除草剤に対して感受性の高い種が他の除草剤にも同様に高い感受性を示すのか、あるいは除草剤の種類によって異なった感受性を示すのかを知る必要がある。そこで光合成阻害剤であるシメトリンと蛋白合成阻害剤であるプレチラクロールとベンチオカーブに対して種による感受性に違いがあるかどうかを調べた。

感受性試験の方法はOECDの藻類生態影響試験法に準拠した方法(連続光下で3日間培養)を用いた。

表12に示すように、藻類の株間に多少の違いがあるが3種の除草剤のどれに対しても緑藻のセテナストルムのほうが緑藻のクロレラより感受性が高かった。

除草剤の藻類に対する毒性はEC<sub>50</sub>値によって比較できる(EC<sub>50</sub>値が低い方が毒性が高い)。毒性の高い順にセテナストルムでは

プレチラクロール>シメトリン>ベンチオカーブ  
であり、クロレラでは

シメトリン>プレチラクロール>ベンチオカーブ  
であった。このことは除草剤の効き方が藻類によって異なることを表している。このメカニズムについては今後  
の問題である。

セテナストルム (*Selenastrum capricornutum* ATCC22662) とクロレラ (*Chlorella vulgaris* CCAP 211/11b) はOECDによって推奨されている藻類生態影響試験の標準藻類株である。上記に示されたようにこれらの2株の感受性は非常に異なるため、どちらかの一方を試験生物として用いた場合にはもう一方を用いた場合と比べて結果が大きく異なることが示された。

## (3) 感受性の種間差の生理的意義

クロレラとセテナストルムのシメトリン感受性が大きく異なるのはどのような生理機構の違いによるものなのかを知るために、ストレスを受けた場合に働くと考えられているいくつかの酵素活性を調べ、シメトリンに対して耐性のあるクロレラとシメトリンに対して感受性の高いセテナストルムとクラミドモナスの値を比較した(表13)。アスコルビン酸ペルオキシダーゼ、グルタチオン還元酵素、SOD(スーパーオキシドディスムターゼ)のすべての活性がクロレラで最も高いことが示された。シメトリンは光合成阻害剤であるが、シメトリン耐性にこのような活性酸素の消去に関与する酵素の活性が関与することが示唆された。

表12 緑藻クロレラ (*Chlorella vulgaris*) とセテナストルム (*Selenastrum capricornutum*) の3種の除草剤に対する感受性の比較

種名(株名)	EC <sub>50</sub> <sup>1)</sup> μg/l (95%信頼限界)		
	シメトリン	プレチラクロール	ベンチオカーブ
<i>Chlorella vulgaris</i> Beij.			
CCAP 211/11b	494(359-681)	3304(1443-7564)	3277(2565-4185)
NIES-227	386(262-569)	734(323-1671)	3788(2594-5530)
<i>Selenastrum capricornutum</i> Printz			
ATCC 22662	9.8(8.9-10.8)	2.5(1.4-4.6)	36.7(28.8-46.7)
NIES-35	6.6(4.8-9.2)	1.3(1.0-1.8)	20.1(15.7-25.8)

1): それぞれの除草剤濃度における増殖量のコントロールに対する割合のプロビットと除草剤濃度の対数値の関係より求めた。連続照明, 3日間培養後の値。

表13 シメトリン感受性の異なる藻類における活性酸素の消去に関する酵素活性の比較

	クロレラ	クラミドモナス	セテナストルム
アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (unit/mg chl. a)	2.83	0.99	0.09
グルタチオン還元酵素 (unit/mg chl. a)	1.67	0.01	0.24
SOD ( $\times 10^3$ unit/mg chl. a)	1.97	0.71	0.31
シメトリン感受性 ( $EC_{50}$ $\mu\text{g/l}$ )	700	27	25

#### (4) 生息環境と感受性の関係

多くの地域から様々な時期に分離した藻類株のシメトリン感受性を調べた場合には、生息環境（除草剤散布の有無）と分離した藻類株のシメトリン感受性の間に相関は見られなかった。つまり、農業にさらされていた環境からも感受性の高い株が分離されたし、無農業地域からも比較的感受性の低い株が分離された。農耕地では多種多様な除草剤が使用されており、それらが水系に流入する。今回の実験ではシメトリンに対する感受性のみを調べ、他の除草剤に対する感受性を調べなかったことが、履歴との相関がみられなかった一つの理由と考えられるが、無農業地帯で耐性株が得られたことについては説明できない。また、除草剤の散布時期は春から初夏の一時に集中するため、その時期に藻類群集への暴露量が非常に高くなっていても、その後ほとんど検出されないという場合が多い。このことも相関がみられなかった理由の一つかもしれない。したがって比較的高濃度の農業にさらされる時期に藻類株を分離した場合や、長い間農業にさらされているような環境からは除草剤耐性株が得られる可能性がある。例えばシメトリンを散布した場所からはシメトリン耐性株が得られる可能性が考えられた。

#### 2.2.5 生物間相互作用に及ぼす除草剤の影響

##### (1) 植物プランクトン群集の除草剤耐性への変化

前に述べたような生息環境と除草剤感受性の関連が、除草剤を繰り返し投与した屋外水槽の植物プランクトン群集で実験的に確かめられた。

つまり、低濃度の除草剤を繰り返し投与し、徐々に除草剤濃度が増加するような系では、除草剤濃度がまだ低い実験初期に、植物プランクトン群集の現存量が除草剤によって抑制されたにもかかわらず、もっと除草剤濃度が高くなった時期にはむしろ現存量の増加が見られた。これはそれまで除草剤に感受性が高かった植物プランク

トン群集が除草剤に耐性の高い群集に変化したことを示していると考えられた。

この除草剤耐性の植物プランクトン群集と無処理の群集から多くの藻類株を分離培養し、シメトリンに対する感受性を調べた。方法は藻類種間の感受性の違いを調べた時と同様の方法を用いた。

無処理の群集からはクロロコックム目緑藻の *Oocystis*, *Coelastrum*, セネデスムス (*Scenedesmus*), *Pediastrum* が分離された。これらの株すべては、100  $\mu\text{g/l}$  シメトリンを加えた場合の増殖量がシメトリンを加えなかった場合のコントロールの増殖量の15%以下だった。一方、シメトリンに暴露された群集からは珪藻の *Navicula* やボルボックス目緑藻のクラミドモナス、クロロコックム目緑藻のセネデスムス、クロレラ、*Monoraphidium*, *Oocystis* などが分離された。これらの株の100  $\mu\text{g/l}$  シメトリン中での増殖量はコントロールの増殖量の70%以上であった。つまり無処理の群集から分離した株はすべてシメトリンに対する感受性が高く、シメトリン処理した群集から分離した株はすべてシメトリン耐性が高かったことになる。

その中から同じ種でありながらシメトリン処理区から耐性株が分離され、無処理区から感受性株が分離されたセネデスムスの一種に対するシメトリンの  $EC_{50}$  値を表14に示した。 $EC_{50}$  値は、無処理水槽から分離した株では15~22  $\mu\text{g/l}$  であったが、処理水槽から分離した株では590~850  $\mu\text{g/l}$  と26倍以上の開きがあった。クラミドモナスの一種 (*Chlamydomonas reinhardtii*) では、除草剤アトラジンに耐性の高い突然変異株が分離されている。耐性の高い変異株の  $EC_{50}$  値は感受性の高い野生株の  $EC_{50}$  値に比べて約10倍高いことが示されている。このことから、シメトリン処理した群集から分離したセネデスムスの一種は明らかに耐性を有していると言える。また、この除草剤耐性は、分離後約2年間除草

表14 無処理およびシメトリン処理水槽から分離したセネデスマスの一種のシメトリンのEC<sub>50</sub>値の比較  
EC<sub>50</sub>値は7日間培養後の増殖量から求めた。

株名	LCL ( $\mu\text{g/l}$ )	EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/l}$ )	UCL ( $\mu\text{g/l}$ )
無処理水槽から分離			
B-8-7-1	10.5	16.9	27.2
B-8-12-1	11.3	16.1	22.9
B-8-13-1	8.6	16.0	29.8
B-8-16-1	9.4	14.8	23.2
B-8-23-1	9.9	22.3	50.3
B-8-24-1	11.3	16.3	23.6
シメトリン処理水槽から分離			
B-3-4-1	189	587	1822
B-3-12-5	362	846	1975
B-3-15-1	378	690	1259
B-12-2-1	178	677	2576

LCLとUCLは95%信頼限界を示す。

剤を加えない培養液中で培養したにもかかわらず持続したことから、順化による生理的な適応ではなく遺伝的な違いに基づくものであると考えられた。

これらの結果から、実験生態系での除草剤処理による植物プランクトン群集の耐性の獲得は、感受性の種から耐性のより高い種への入れ替わりではなく、同種内での耐性系統への入れ替わりによって起こったことが分かった。様々な環境要因によって耐性の種への入れ替わりも起こることは当然予想されることであり、既にいくつかの報告がある。しかし、同種でありながら耐性の系統に入れ替わることは今回の研究によって初めて明らかにされた。このことは、除草剤というストレスのない環境では感受性の種ないし系統が優占し、ストレスのある環境では耐性の種ないし系統が優占することを示し、藻類の種間あるいは同種内の系統間の相互関係に除草剤が影響を及ぼして群集の構造を変えていることを示唆している。

## 2.2.6 プランクトン群集に及ぼす除草剤影響の実験水槽を用いた解析

### (1) 除草剤1回投与の影響

実験水槽に地下水を満たして動植物プランクトン群集を発生させ、主な動物プランクトン種が出そろった時期(実験開始後18日目)にそれぞれ0.1 mg/l(低濃度処理)と1.0 mg/l(高濃度処理)のシメトリンを実験水槽に投与してプランクトン群集の変化を調べた。

高濃度処理水槽ではシメトリンは植物プランクトン群集の現存量(クロロフィルa量)を顕著に低下させた。しかし低濃度処理水槽では、投与直後には現存量の低下がみられたが、約3週間後には、除草剤濃度は最初に投与した量の半分程度にしか減少していないにもかかわらず無処理水槽とみかけ上同じレベルかそれ以上にまで回復した(図34)。

植物プランクトン群集ではクリプト藻とボルボックス目緑藻が除草剤投与後明らかに減少した。しかし、低濃度処理水槽では約1週間後にはクリプト藻が回復し、中心目珪藻の増加も見られた(図34)。これは植物プランクトン群集全体のクロロフィル量の回復や光合成活性の回復と一致した。

実験期間中に出現した植物プランクトンは、緑藻のクラミドモナスやセネデスマスなど、珪藻のキクロテラやステファノディスカス、クリプト藻のクロオモナスなどであり、除草剤処理による顕著な種組成の変化は観察されなかった。

動物プランクトン群集の現存量には処理による明らかな影響がみられ、低濃度処理で植物プランクトン群集の

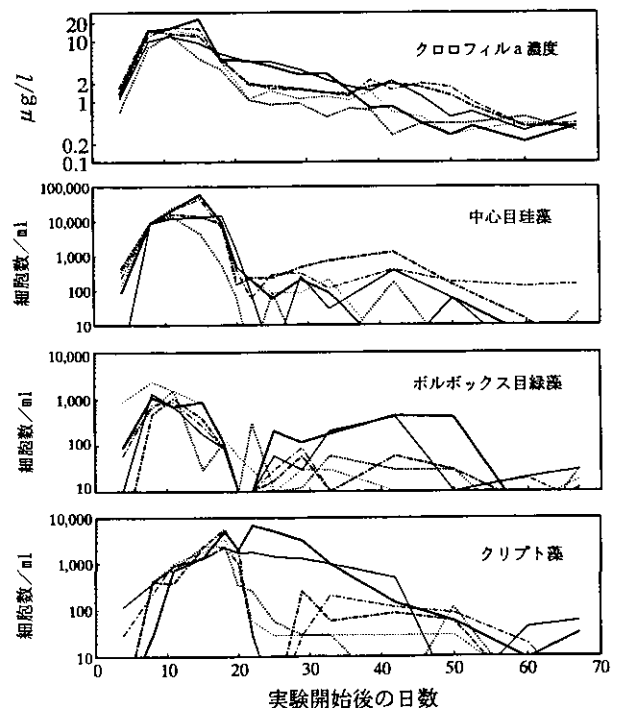


図34 屋外水槽の植物プランクトン群集のクロロフィルa濃度と代表的な植物プランクトンの細胞密度の変化に及ぼす除草剤シメトリンの影響  
シメトリンは実験開始後18日目に投与した。実線：コントロール、一点鎖線：0.1mg/lシメトリン処理、点線：1mg/lシメトリン処理。



現存量が無処理と変わらなくなった時でも明らかに減少していた(図35)。これは除草剤の直接影響ではなく、植物プランクトンの生産力が低下したことによる動物プランクトンへの餌の供給量不足のためであると考えられた。そして除草剤処理水槽では餌不足のため動物プランクトンの餌をめぐる種間競争が激しくなり、無処理水槽では共存していた種のうち競争に弱い種はより顕著に減少した(図35)。

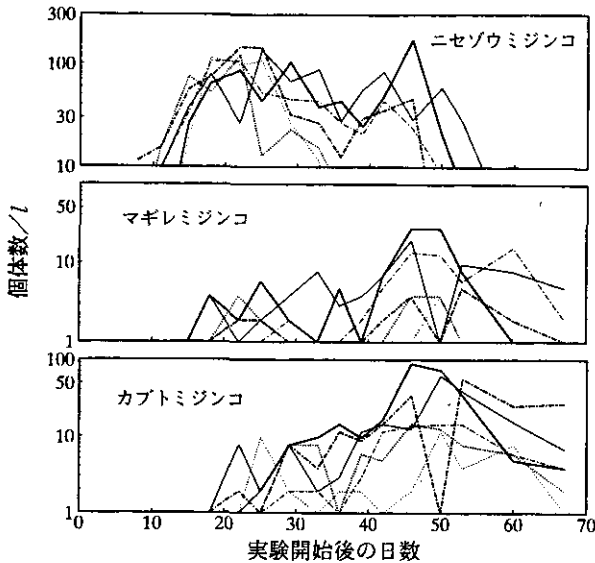


図35 屋外水槽に出現した動物プランクトン群集で優占した枝角類の個体群密度の変化に及ぼす除草剤シメトリンの影響  
シメトリン投与日及び表示は図34と同じ。

つまり、プランクトン群集に除草剤が投与された場合、植物プランクトン群集の現存量には変化が明確に現れなくても、動物プランクトン群集の現存量に顕著な変化が現れることが分かった。

## (2) 除草剤の連続投与の影響

実験水槽に比較的低濃度のシメトリン(20  $\mu\text{g}/\text{l}$ と40  $\mu\text{g}/\text{l}$ )を週1回投与し、シメトリン濃度が15  $\mu\text{g}/\text{l}$ から最高100  $\mu\text{g}/\text{l}$ (低濃度処理)または180  $\mu\text{g}/\text{l}$ (高濃度処理)まで徐々に増加し、その後徐々に減少する系を作製し、プランクトン群集の変化を調べた。シメトリン濃度と植物プランクトン群集の現存量の変化を図36に示した。15~20  $\mu\text{g}/\text{l}$ という低濃度の除草剤によっても植物プランクトン群集の現存量は著しく抑制され、無処理水槽の1/5程度に抑えられることが分かった。しかし、低濃度処理水槽では、その後徐々にシメトリン濃度が増加し、100  $\mu\text{g}/\text{l}$ 近くに達したにもかかわらず植物プランクトン群集の現存量は著しく増加した。植物プランクトン群集の種組成は余り変化しなかった。このことは植物プランクトンの多くがシメトリンに耐性の別の種に入れ替わったのではなく、同種内で耐性系統に入れ替わったことを示している。

植物プランクトンの耐性系統が出現してクロロフィル濃度が増加した時期には動物プランクトンの現存量も増加し、無処理水槽の動物プランクトン群集と同様の現存量

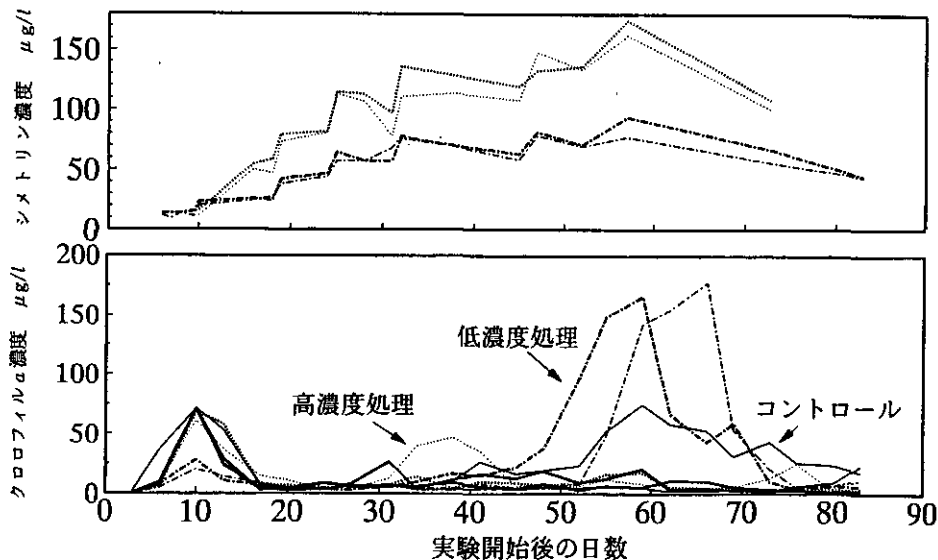


図36 除草剤シメトリンの繰り返し投与の植物プランクトン群集に及ぼす影響とシメトリン濃度とクロロフィルa濃度の変化  
シメトリンは実験開始後6日目(低濃度処理)又は10日目(高濃度処理)から53日目まで週一回投与した。実線:コントロール、一点鎖線:低濃度処理(一回の投与濃度20  $\mu\text{g}/\text{l}$ )、点線:高濃度処理(40  $\mu\text{g}/\text{l}$ )。

を示した。一方、高濃度処理水槽では、植物プランクトンは耐性系統に入れ替わったにもかかわらず現存量の増加は見られなかった。高濃度処理水槽では耐性系統でも増殖が抑制されているのかもしれない。また、動物プランクトンによる摂食と植物プランクトンの増殖のバランスによって植物プランクトン群集の現存量が決められていると考えられた。無処理水槽と低濃度処理水槽間の植物プランクトン群集の現存量の違いもこのためかもしれない。この原因を明らかにするためには、さらに動物プランクトン間の関係を解析する必要がある。

### (3) 藻類群集の光合成活性

除草剤の多くは光合成阻害剤であり、またそうでなくても最終的には藻類の光合成活性が阻害されることが予測された。そこで実験生態系の植物プランクトン群集の光合成活性に対する除草剤の影響を、藻体内に取り込まれた炭素の安定同位体比を調べることによって測定した。その結果、光合成活性は0.1 mg/lのシメトリンによって明らかに抑制されることが示された。このことは、除草剤処理水槽では植物プランクトンの生産力が低下することによって動物プランクトンの餌不足を招いていることを裏付けている。

また、野外の藻類群集の光合成活性を、除草剤散布前後の水田の藻類群集について調べた(図37)。無農薬水田でも農薬散布水田でも現存量には違いがみられなかったが、光合成活性は、バラツキが大きいものの、農薬散布時期には農薬散布水田でより低い傾向を示した。

### (4) 除草剤と殺虫剤の複合影響

野外では単独の農薬ではなくいくつかの農薬が同時に検出される。また実験生態系では、前述したように、植物プランクトン群集の変化を見る場合に動物プランクトンの摂食の影響が切り放せないことが示された。このことは野外の群集でも当然予測されることである。しかも摂食は植物プランクトン群集の変動に大きな影響を及ぼしていると思われた。これまでの除草剤の影響を調べた実験では、除草剤によって明らかに生産力が抑えられていても現存量には影響が現れていないと思われる結果が得られた。もちろん、生産力の抑制はそれを餌とする動物プランクトンの現存量の減少として現れた。しかし、除草剤自体がどの程度植物プランクトン群集に影響を及ぼしているかははっきりとつかめなかった。そこで、現

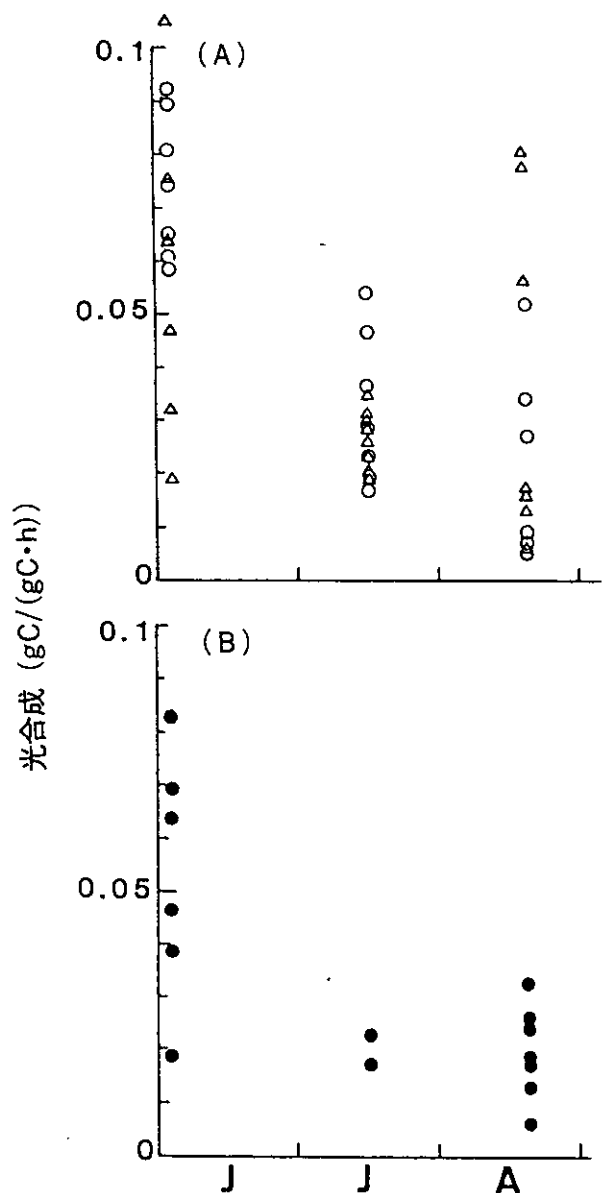


図37 完全無農薬水田(A)と農薬散布水田(B)における藻類群集の光合成速度

(A)のシンボルの違いは水田の違いを示す。

実にも起こり得る状況として、また、動物プランクトンの摂食圧を抑える手段として、除草剤と殺虫剤の両方を同時に投与してそれらの複合影響を調べた。殺虫剤投与によって動物プランクトンの摂食圧の異なる水系を形成することができ、そういった状況での植物プランクトン群集の除草剤投与に対する反応を比較した。

実験には前記と同様の実験生態系を用い、無処理、除草剤シメトリン単独(0.1 mg/l)、殺虫剤フェンチオン単独(0.05 mg/l)及びシメトリンとフェンチオン複合(シメトリン0.1 mg/lとフェンチオン0.05 mg/l)処理を行った。

植物プランクトン群集の現存量の変化は無処理とシメトリン単独処理では同様であり (図38a), 見かけ上はシメトリンは植物プランクトンの現存量に対してほとんど影響を及ぼさなかったことになる。しかし, 殺虫剤フェンチオンを加えて動物プランクトン群集を制御して種組成と現存量を変えた場合には明らかに異なった結果が得られた。殺虫剤単独処理では, 実験期間の後期にクロロフィル量が顕著に増加したのに対して (図38b), 殺虫剤と除草剤の複合処理ではこのクロロフィル量の増加は明らかに抑制された (図38c)。

前述したように, 無処理水槽の動物プランクトン群集では, 最終的には大型のカプトミジンコが優占する摂食圧の高い群集が形成されていたが, 殺虫剤処理によってカプトミジンコが除かれ, 摂食圧の低い群集に変化していた。つまり, このことは動物プランクトン群集の構造

の違いによって除草剤の植物プランクトン群集への影響が異なることを表している。

## 2.3 まとめ

### 2.3.1 河川生態系における農薬類複合汚染の生態影響評価

1) 河川水中の化学物質の総合的毒性を連続的に評価する手法として水生生物を用いた生物試験を行う一方, 同じ頻度で農薬類の分析を行った。水中に検出された個々の農薬類の毒性試験の結果 (用量～反応の回帰式) と水中濃度のデータから, セレナストルム (緑藻) の増殖阻害は数種の除草剤の相加的・拮抗的な影響, ヌカエビ死亡率の増大は数種殺虫剤の相加的・相乗的な影響が主因で引き起こされたことを明らかにした。第1に相加的影響を検討することは相乗的影響や拮抗的影響の有無や他の毒性物質の存在を示唆するなど総合的な毒性評価に有効であった。

2) 除草剤の複合汚染によりセレナストルムの増殖が河川水サンプル中でほぼ完全に抑制されたとき (5月中旬), 河川の藻類生産も抑制されることが示された。藻類生産は水中の除草剤濃度が低下するに伴って速やかに回復する。しかし藻類を餌にしているカゲロウなどの水生昆虫の多くは年1～2世代と寿命が比較的長く, 春期 (若齢期) には餌量の減少のみならず, 農薬類による餌の汚染を介した影響評価なども今後の検討課題である。セレナストルムが著しい影響を受けた時期にも, 河川の藻類群集の構造に顕著な変化はなかった。

3) つくば市, およびその近辺の10数河川で調査した結果, 河川水サンプル中でヌカエビの死亡率は単独の殺虫剤, または農薬類の複合汚染に反応して死亡や行動異常を起こした。試験は2～3日間隔で実施したが, 実際の河川ではヌカエビは長期間農薬類に暴露され続けることを考えると, いずれの調査河川でもヌカエビ, あるいはそれと同等の感受性を有する水生生物の持続的の生息は困難な環境であったと推測される。

4) 水生昆虫の殺虫剤 (有機リン系, フェニトロチオン) に対する感受性の種間差には24時間半数致死濃度で比較するとカゲロウの感受性種の数  $\mu\text{g/l}$  からコガタシマトビケラの数  $1000 \mu\text{g/l}$  まで, およそ1000倍の差があった。しかも, 水生昆虫の感受性はふ化後の若齢期に高いので, その時期の感受性はヌカエビと同レベルの水生昆虫は少なくないものと考えられた。水生昆虫の若

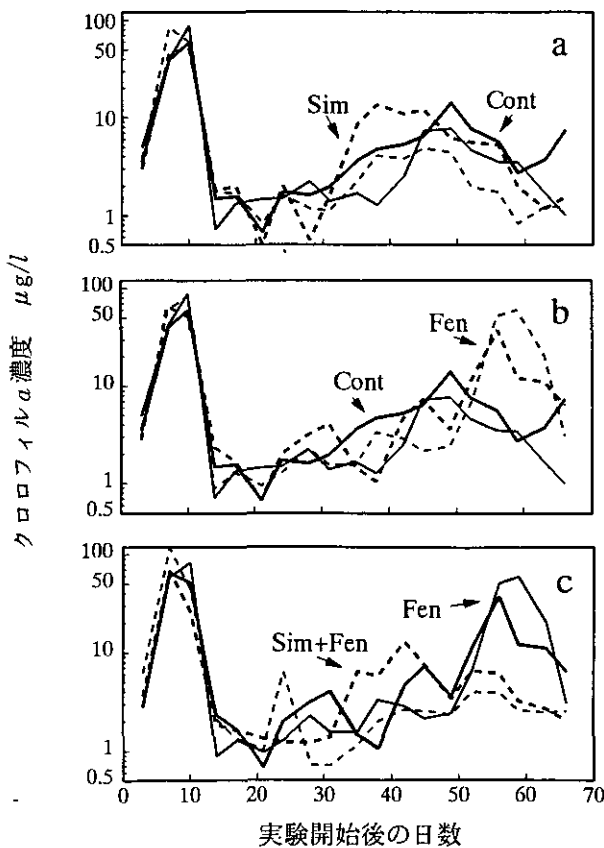


図38 除草剤シメトリン, 殺虫剤フェンチオンの単独及び複合処理水槽のクロロフィルa量の変化  
a:無処理とシメトリン単独処理の比較。b:無処理とフェンチオン単独処理の比較。c:フェンチオン単独処理とシメトリンとフェンチオンの複合処理の比較。シメトリンとフェンチオンは実験開始後24日目に投与した。Cont: コントロール, Sim: シメトリン単独処理 (0.1mg/l), Fen: フェンチオン単独処理 (0.05mg/l), Sim+Fen: シメトリンとフェンチオンの複合処理 (濃度はそれぞれ単独の場合と同じ)。

齡期（春～初夏期）に農薬汚染が高まるため、この時期の水生昆虫に及ぼす影響評価は特に必要である。

5) ユスリカ類には様々な環境汚染に適応した種類が存在するため、農薬類の環境汚染とユスリカの種類・薬剤耐性との関係を調査した。農薬類の汚染河川からは殺虫剤に対し著しい耐性を獲得した種類、または耐性を獲得した系統（本来の感受性系統も検出）など併せて5種類ユスリカを確認した。またそれらの薬剤耐性機構についても検討した。薬剤暴露による耐性獲得を除けばユスリカ種類間の感受性の種間差は10倍以内と少ない。他の水生昆虫同様ユスリカの1齢の感受性は高いが、4齢後期～蛹期の感受性が著しく低下することが分かった。

6) 調査河川では春から夏期にかけ様々な種類の農薬類に汚染された。小貝川河川水を導入した水路では、国内の河川に広く優占するヒラタカゲロウ（2種、農薬類の低汚染河川から採集し水路に導入）の死亡率も6月には著しく増大した。しかし、水生昆虫の中では感受性の高いエルモンヒラタカゲロウも、冬期には水温が低いために成長速度が遅れるが、農薬使用直前の早春には100%近く羽化することなどから、農薬以外の水質的には感受性の水生昆虫でも生息可能な水質に戻っていたことが示された。

7) 農薬類の汚染が河川の生物群集に及ぼす影響を評価するため上流部が農薬汚染負荷が少ない（対照区）が下流部は夏期に殺虫剤・殺菌剤の空中散布を4回受ける水田地帯を流下する河川（山形県・砂川）で生物調査等を行った。上流の地点では年間を通し40～50種の水生昆虫が生息していたが、下流部では春から徐々に種類数が減少し、特に農薬散布期間に種類数が激減し、そこに安定して生息し得た生物は殺虫剤耐性が高い種と、一時的に影響を受けても回復能力の高い水生昆虫の数種のみであった。農薬類の総合的な影響はヌカエビ試験においても顕著であり、生物群集の破壊とヌカエビ死亡率の増大との相互関係がこの調査でも示された。

しかし、農薬類の汚染が低下する秋から翌年の冬にかけ、約5km上流域の水生昆虫の流下により下流において生物群集の回復傾向が認められたがそれも充分でなく（種類数・生息密度とも）、再び翌年夏期の農薬散布で生物群集がかく乱され影響を被ると言うサイクルを繰り返した。小貝川の調査地点においても、そこに生息している生物の種類数が少なく、農薬類汚染時期に優占する水生昆虫は殺虫剤耐性種や耐性系統である。もし春～夏期

の農薬汚染が今後なくなると仮定しても、砂川のように近くに生物群集の回復源がない河川では生態系の回復には長い年月がかかるものと考えられる。

### 2.3.2 湖沼生態系に対する農薬の生態影響評価

湖沼生態系の中では、化学物質に対し最も感受性が高く、生態系の低次生産過程を支えるプランクトン群集への農薬影響を調べた。

1) 殺虫剤に対しては動物プランクトンが高い感受性を持つが、その程度は種やグループで異なる。殺虫剤カルバリルとフェンチオンに対する感受性は、枝角類（ミジンコ類）で最も高く、ワムシ類で低かった。枝角類の中では、大型のミジンコ（ダフニア）が最も敏感で、小型のニセゾウミジンコが最も高い耐性を持っていた。すなわち、大きな種ほど殺虫剤感受性が高い傾向にあった。除草剤（シメトリン）については植物プランクトン種で感受性試験を行った。緑藻とラン藻が高い感受性を持ち、一方で鼓藻類やケイ藻類の感受性は低かった。藻類における感受性の種間差には、活性酸素の消失に関与する酵素活性がかかわっていることが示唆された。

2) 殺虫剤は、ミジンコにとってストレスとなる捕食者の放出する化学物質（カイロモン）や低酸素濃度と相乗的に作用して、ミジンコの個体群動態に影響を与えることが分かった。また、殺虫剤は、かなり低濃度でも、ミジンコの形態変化や行動に影響を与え、食う一食われる関係などの生物間相互作用に影響を与えることが示唆された。これらの結果から、実験室での毒性試験の結果を野外での化学物質の影響評価に用いると、その影響を過小評価する可能性のあることが指摘された。

3) 植物プランクトン群集が除草剤にさらされると、種組成が変わらなくても、同種内の遺伝的系統が入れ替わることが見いだされた。すなわち、様々な種で、遺伝的に除草剤耐性をもつ系統がもたない系統と入れ替わり、藻類種の構成を変えずに群集の除草剤耐性を高めたのである。このことは、逆にみると、除草剤に汚染されていない環境では、耐性の低い系統が高い系統に生存力で勝っていることを示している。除草剤はこの系統間の競争関係に影響を与えると言うことができよう。

4) 屋外の水槽を用いた実験で、殺虫剤の動物プランクトン群集影響に、殺虫剤の残留時間と捕食者の有無が影響を与えることが示された。残留時間が長いと、高感受性種の回復を遅らせ、それと競争関係にあった他の種

の増殖を招く。捕食者は、捕食作用によって動物プランクトン群集構造を変え、それが殺虫剤投与に対する群集の反応を変化させるのである。

水槽に除草剤を投与したときには、直接影響を受けるはずの植物プランクトン群集の現存量と種組成に大きな変化は起こらず、動物プランクトン群集の現存量の低下を引き起こした。動物プランクトンの減少は、除草剤の光合成阻害効果により植物プランクトンの成長速度が低下した結果、動物プランクトンへの餌の供給量が減少したことによると考えられ、薬剤の間接影響と見られる。植物プランクトン群集の変化がはっきり見られなかったのは、除草剤による直接影響と動物プランクトン群集による摂食作用の変化などの複雑な要因が関係した結果と考えられる。植物プランクトン群集への除草剤影響に、動物プランクトンの摂食が重要な役割を果たしていることが、殺虫剤により動物プランクトン群集を制御しながら除草剤投与した実験により明らかにされた。

本研究では、湖沼生態系において、感受性の高い種(系統)が直接殺虫剤や除草剤の影響を受けると、その影響が複雑な生物間相互作用を介して個体群の遺伝子組

成、群集の種組成や現存量に及ぶことを示した。したがって、この農薬影響は、最終的には生態系全体に波及することになろう。特に興味深いことは、湖沼生態系の重要種である大型ミジンコ(ダフニア)が、殺虫剤に対し感受性が高いことである。ダフニアは、それが餌とする植物プランクトン群集や、それを餌として利用する魚群集と強い関係をもっている。したがって、ダフニア個体群が農薬で影響を受けると、その影響はたやすく生態系全体に及ぶものと考えられる。さらに、本研究で得られた成果で重要なことは、農薬の生物間相互作用への影響が、室内で行われる慢性毒性試験で影響が見られる農薬濃度よりも低濃度でみられるということである。湖沼を汚染している低濃度の農薬が、複雑な生物間相互作用を介して生態系に影響を与えている可能性が高いと言えるのではなかろうか。

生物間相互作用は生態系を維持するために重要な働きをしている。しかし、複雑であるがゆえに不明な部分が多い。その複雑なものに及ぼす有害化学物質の影響の評価は簡単ではない。今後さらに研究を進める必要がある。

[資 料]

## I 研究の組織と研究課題の構成

### 1 研究の組織

#### [A 研究担当者]

##### 地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
上席研究官	中杉修身
化学物質生態影響評価研究チーム	畠山成久・笠井文絵・花里孝幸・菅谷芳雄
化学物質健康リスク評価研究チーム	白石寛明
開発途上国健康影響研究チーム	安藤 満

##### 地球環境研究グループ

統括研究官	安野正之
野生生物保全研究チーム	高村健二

##### 生物圏環境部

部長	岩熊敏夫
生態機構研究室	高村典子・宮下 衛・野原精一・上野隆平・多田 満
分子生物学研究室	田中 浄

#### [B 客員研究員]

福嶋 悟	(横浜市環境研究所)	(平成元～5年度)
谷田 一三	(大阪府立大学)	(平成元～5年度)
横山 宣雄	(山形大学)	(平成元～5年度)
日高 秀夫	(九州共立大学)	(平成元～5年度)
渡辺 泰徳	(東京都立大学)	(平成2～5年度)
中野 武登	(広島大学)	(平成2～5年度)
大井 高	(徳島大学)	(平成2～3年度)
昆野 安彦	(農業環境技術研究所)	(平成3～5年度)
菊池三穂子	(埼玉医科大学)	(平成3～4年度)
市村 輝宜	(北海道大学)	(平成3～4年度)

### 2 研究課題と担当者（\*客員研究員）

#### 2.1 生態系レベルにおける化学物質の相乗的影響に関する研究

畠山成久・菅谷芳雄・笠井文絵・白石寛明・高村健二・岩熊敏夫・野原精一・上野隆平・多田 満・福嶋 悟\*

#### 2.2 生物の化学物質に対する種特異的感受性に関する研究

畠山成久・笠井文絵・花里孝幸・菅谷芳雄・安藤 満・高村典子・宮下 衛・田中 浄・昆野安彦\*・谷田一三\*・中野武登\*・市村輝宜\*

#### 2.3 生物種間の相互作用に及ぼす化学物質の影響評価に関する研究

花里孝幸・笠井文絵・安野正之・上野隆平・渡辺泰徳\*・大井 高\*・菊池三穂子\*

#### 2.4 生態系レベルでの化学物質のリスクアセスメントに関する研究

畠山成久・花里孝幸・菅谷芳雄・安野正之・岩熊敏夫・福嶋 悟\*・横山宣雄\*・日高秀夫\*

## II 研究成果発表一覧

### 1 誌上发表

発表者	題目	掲載誌	巻(号)	ページ	刊年
T. Hanazato, H. Hayashi, T. Ichikawa, Y. Watanabe	Dynamics of zooplankton community in enclosures of different types in a shallow eutrophic lake.	Jpn. J. Limnol.	50	25-37	1989
T. Hanazato, T. Iwakuma, M. Sakamoto, M. Yasuno	Effects of temephos on zooplankton communities in enclosures in a shallow eutrophic lake.	Environ. Pollut.	59	305-314	1989
T. Hanazato, M. Yasuno	Zooplankton community structure driven by vertebrate and invertebrate predators.	Oecologia	81	450-458	1989
T. Hanazato, M. Yasuno, M. Hosomi	Significance of a low oxygen layer for a <i>Daphnia</i> population in Lake Yunoko, Japan.	Hydrobiologia	185	19-27	1989
T. Hanazato, M. Yasuno	Influence of time of application of an insecticide on recovery patterns of a zooplankton community in experimental ponds.	Arch. Environ. Contam. Toxicol.	19	77-83	1990
T. Hanazato, M. Yasuno	Influence of <i>Chaoborus</i> density on effects of an insecticide on zooplankton communities in ponds.	Hydrobiologia	194	183-197	1990
T. Hanazato	A comparison between predation effects on zooplankton communities by <i>Neomysis</i> and <i>Chaoborus</i> .	Hydrobiologia	198	33-40	1990
T. Hanazato, M. Yasuno	Influence of persistence period of an insecticide on recovery patterns of a zooplankton community in experimental ponds.	Environ. Pollut.	67	109-122	1990
T. Hanazato	Induction of helmet development by a <i>Chaoborus</i> factor in <i>Daphnia ambigua</i> during juvenile stages.	J. Plankton Res.	12	1287-1294	1990
T. Hanazato, M. Yasuno	Insights into competition in zooplankton communities derived from studies using experimental ponds.	Verh. Internat. Ver. Limnol.	24	1572-1580	1991



発表者	題目	掲載誌	巻(号)	ページ	刊年
T. Hanazato	Effects of a <i>Chaoborus</i> -released chemical on <i>Daphnia ambigua</i> : Reduction in the tolerance of the <i>Daphnia</i> to summer water temperature.	Limnol. Oceanogr.	36	165-171	1991
T. Hanazato	Influence of food density on the effects of a <i>Chaoborus</i> -released chemical on <i>Daphnia ambigua</i> .	Freshwat. Biol.	25	477-483	1991
T. Hanazato	Interrelations between <i>Microcystis</i> and Cladocera in the highly eutrophic Lake Kasumigaura, Japan.	Internat. Revue ges. Hydrobiol.	76	21-36	1991
T. Hanazato	Pesticides as chemical agents inducing helmet formation in <i>Daphnia ambigua</i> .	Freshwat. Biol.	26	419-424	1991
T. Hanazato	Effects of long- and short-term exposure to carbaryl on survival, growth and reproduction of <i>Daphnia ambigua</i> .	Environ. Pollut.	74	139-148	1991
T. Hanazato	Effects of repeated application of carbaryl on zooplankton communities in experimental ponds with or without the predator <i>Chaoborus</i> .	Environ. Pollut.	74	309-324	1991
T. Hanazato, N. Takamura, M. Yasuno	Occurrence of <i>Bosmina longirostris</i> and <i>Bosmina fatalis</i> in enclosures in relation to phytoplankton biomass.	Pol. Arch. Hydrobiol.	38	177-182	1991
T. Hanazato	Induction of development of high helmets by a <i>Chaoborus</i> -released chemical in <i>Daphnia galeata</i> .	Arch. Hydrobiol.	122	176-	1991
T. Hanazato	Direct and indirect effects of low oxygen layers on lake zooplankton communities.	Arch. Hydrobiol. Ergeb. Limnol.	35	87-98	1992
T. Hanazato	Insecticide inducing helmet development in <i>Daphnia ambigua</i> .	Arch. Hydrobiol.	123	451-457	1992
T. Hanazato, T. Ooi	Morphological responses of <i>Daphnia ambigua</i> to different concentrations of a chemical extract from <i>Chaoborus flavicans</i> .	Freshwat. Biol.	27	379-385	1992

発表者	題目	掲載誌	巻(号)	ページ	刊年
T. Hanazato, S. I. Dodson	Complex effects of a kairomone of <i>Chaoborus</i> and an insecticide on <i>Daphnia pulex</i> .	J. Plankton Res.	14	1743-1755	1992
K. E. Havens, T. Hanazato	Zooplankton community responses to chemical stressors: A comparison of results from acidification and pesticide contamination research.	Environ. Pollut.	82	277-288	1993
T. Hanazato, S. I. Dodson	Morphological responses of four species of cyclomorphic <i>Daphnia</i> to a short term exposure to the insecticide carbaryl.	J. Plankton Res.	15	1087-1095	1993
花里孝幸	湖沼の動物プランクトン群集におけるカイロモンを介した捕食者-被食者関係	日本生態学会誌	44	61-77	1994
T. Hanazato	Indirect effects of the predator <i>Chaoborus</i> on <i>Daphnia</i> populations through chemical signals.	Estimation of Water and Overland Ecological System (Nauka, 164p.)		43-51	1994
T. Hanazato	Stability and diversity of a zooplankton community in experimental ponds.	Biodiversity: Its Complexity and Role (Global Environmental Forum, 273p.)		177-186	1994
S. I. Dodson, T. Hanazato, P. Gorski	Behavioral responses of <i>Daphnia pulex</i> exposed to carbaryl and <i>Chaoborus</i> kairomone.	Environ. Toxicol. Chem.	14	43-50	1995
S. I. Dodson, T. Hanazato	Commentary on effects of anthropogenic and natural organic chemicals on development, swimming behavior, and reproduction of <i>Daphnia</i> , a key member of aquatic ecosystems.	Environ. Health Persp.	103	in press	1995
T. Hanazato, F. Kasai	Effects of the organophosphorus insecticide fenthion on phyto- and zooplankton communities in experimental ponds.	Environ. Pollut.		in press	1995
T. Hanazato	Combined effect of the insecticide carbaryl and the <i>Chaoborus</i> kairomone on helmet development in <i>Daphnia ambigua</i> .	Hydrobiologia		in press	1995

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
T. Hanazato, S. I. Dodson	Synergistic effects of low oxygen concentration, a predator kairomone and an insecticide on the cladoceran <i>Daphnia pulex</i> .	Limnol. Oceanogr.		in press	1995
T. Hanazato	Effects of insecticides on interaction between the predator <i>Chaoborus</i> and the prey <i>Daphnia</i> .	Proc. 7th Internat. Symp. River Lake Environ.		in press	1995
S. Hatakeyama, H. Shiraishi, N. Kobayashi	Effects of aerial spraying of insecticides on nontarget macrobenthos in a mountain stream.	Ecotoxicol. Environ. Saf.	19	254-270	1990
畠山成久	農薬空中散布の水生昆虫に及ぼす影響	水	33	24-30	1991
S. Hatakeyama, H. Shiraishi, Y. Sugaya	Monitoring of the overall pesticide toxicity of river water to aquatic organisms using a freshwater shrimp, <i>Paratya compressa improvisa</i> .	Chemosphere	22	229-235	1991
S. Hatakeyama	Effects of chlornitrofen, a herbicide, on reproduction of <i>Brachionus urceolaris</i> (Rotatoria) through water and food ( <i>Chlorella</i> ).	Environ. Pollut.	70	143-156	1991
畠山成久, 白石寛明, 浜田篤信	霞ヶ浦水系河川のヌカエビ ( <i>Paratya compressa improvisa</i> ) 生物試験による農薬毒性の季節変動	水質汚濁研究	14	460-468	1991
S. Hatakeyama, H. Shiraishi	Chronic effects of waterborn or dietary exposure to a herbicide, chlornitrofen (2,4,6-trichlorophenyl-4'-nitrophenyl ether), on reproduction of <i>Polypedilum nubifer</i> (Chironomidae).	Water Res.	25	945-951	1991
S. Hatakeyama, Y. Sugaya, K. Satake, M. Miyashita, S. Fukushima	Macroinvertebrate communities in heavy metal-polluted rivers in the Shikoku district of Japan.	Verh. Int. Ver. Limnol.	24	2220-2227	1991
畠山成久, 福嶋 悟, 笠井文絵, 白石寛明	河川の藻類生産に及ぼす除草剤の影響評価	陸水学雑誌	53	327-340	1992

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
畠山成久	農薬類の水界生態系影響評価に関して	最近の農薬の研究成果と今後の展望(産業技術研究会, 112p.)		8/1-8-10	1992
畠山成久	魚類急性毒性試験	総合化学物質対策検討調査(環境庁委託業務結果報告書)(環境情報科学センター, 356p.)		157-176	1992
畠山成久	セレナストルム・ヌカエビの生物試験による除草剤・殺虫剤の潜在的生態影響モニタリング	用水と廃水	35	39-45	1993
Y. Konno, S. Hatakeyama, Y. Sugaya, S. Fukushima	A fenitrothion-insensitive mechanism of the caddisfly, <i>Cheumatopsyche brevilineata</i> (Trichoptera: Hydropsychidae), a dominant species in pesticide-polluted rivers.	Appl. Entomol. Zool.	29	113-116	1994
S. Hatakeyama, S. Fukushima, F. Kasai, H. Shiraishi	Assessment of herbicide effects on algal production in the Kokai River (Japan) using model stream and <i>Selenastrum</i> bioassay.	Ecotoxicol.	3	143-156	1994
S. Hatakeyama, H. Shiraishi	Assessment of residual fenthion in sediment based on growth inhibition and mortality of a freshwater shrimp, <i>Paratya compressa improvisa</i> .	Chemosphere	29	819-826	1994
T. Iwakuma, H. Shiraishi, S. Nohara, K. Takamura	Runoff properties and change in concentrations of agricultural pesticides in a river system during a rice cultivation period.	Chemosphere	27	677-691	1993
遠藤勝也, 笠井文絵	藻類生長阻害試験	総合化学物質対策検討調査(環境庁委託業務結果報告書)(環境情報科学センター, 356p.)		71-115	1992
F. Kasai, N. Takamura, S. Hatakeyama	Effects of simetryne on growth of various freshwater algal taxa.	Environ. Pollut.	79	77-83	1993
F. Kasai, S. Hatakeyama	Herbicide susceptibility in two green algae, <i>Chlorella vulgaris</i> and <i>Selenastrum capricornutum</i> .	Chemosphere	27	899-904	1993

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
F. Kasai, T. Hanazato	Effects of the triazine herbicide simetryn on freshwater plankton communities in experimental ponds.	Environ. Pollut.		in press	1995
F. Kasai, T. Hanazato	Genetic changes in phytoplankton communities exposed to the herbicide simetryn in outdoor experimental ponds.	Arch. Environ. Contam. Toxicol.	28	154-160	1995
Y. Sugaya, M. Yasuno, T. Yanai	Effects of toxic <i>Microcystis viridis</i> and isolated toxins on goldfish.	Jpn. J. Limnol.	51	149-153	1990
M. Tada, H. Shiraishi	Changes in abundance of benthic macroinvertebrates in a pesticide-contaminated river.	Jpn. J. Limnol.	55	165-170	1994
K. Takamura, Y. Sugaya, N. Takamura, T. Hanazato, M. Yasuno, T. Iwakuma	Primary production of phytoplankton and standing crops of zooplankton and zoobenthos in hypertrophic Lake Teganuma.	Hydrobiologia	173	173-184	1989
K. Takamura, S. Hatakeyama, H. Shiraishi	Odonate larvae as an indicator of pesticide contamination.	Appl. Ent. Zool.	26	321-326	1991
K. Takamura, S. Nohara, T. Kariya, M. Okazaki, K. Ito	Effects of pesticide contamination from rice fields on stream benthic arthropods.	Jpn. J. Limnol.	52	95-103	1991
K. Takamura	Decrease of chironomid emergence by exposure to the surfactant ABS in artificial channels.	Jpn. J. Limnol.	53	363-372	1992
K. Takamura	Population changes among chironomid species related to secondary effects of pesticide application in rice fields.	Arch. Hydrobiol.	127	205-225	1993
K. Takamura	Chironomids fail to emerge from LAS-contaminated water.	Ecotoxicol.		in press	

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
N. Takamura, S. Hatakeyama, H. Shiraishi	Seasonal changes in species composition and production of periphyton in an urban river running through an abandoned copper mining region.	Jpn. J. Limnol.	51	225-235	1990
N. Takamura, F. Kasai, M. M. Watanabe	Unique response of Cyanophyceae to copper.	J. Appl. Phycol.	2	293-296	1990
K. Tanaka	Tolerance to herbicides and air pollutants.	Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants. (Eds. C. H. Foyer P. M. Mullineaux CRC Press London)		365-378	1994
Y.-M. Bian, K. Tanaka, F. Kasai, K. Sugahara	Resistance of some green algae to simetryn and preventing substances against toxicity of active oxygen. (In Chinese)	J. Plant Resour. & Environ.	3	15-19	1994
M. Yasuno, M. Fukushima, Y. Sugaya	Monitoring of benthic flora and fauna in channels draining a sewage plant.	Bioindi. Environ. Manage. (Acad. Press Ltd., 458 p.)		1-12	1991
M. Yasuno	Significance of interactions among organisms in aquatic ecosystems in response to pesticide contamination.	Pestic. & Future; Toxicol. Stud. Risks & Benefits (North Carolina State Univ., 374 p.)		31-41	1991
M. Yasuno, N. Takamura, T. Hanazato	Nutrient enrichment experiment using small microcosms.	Wetland and Ecotones, Int. Sci. Pub.		181-193	1993
M. Yasuno, A. Asaka, Y. Kono	Effects of pyraclofos (an organophosphorous insecticide) on nutrient enriched ecosystems.	Chemosphere	27	1813-1824	1993
M. Yasuno, S. Hatakeyama	Monitoring of heavy metal pollution with freshwater invertebrates.	Biological Monitoring of the Environment. A Manual of Methods. (Eds. J. Salanki, D. Jeffrey & G. M. Hughes, CAB Internat., Wallingford, 167 p.)		158-160	1994

発 表 者	題 目	掲 載 誌	卷(号)	ページ	刊年
M. Yasuno, T. Iwakuma	Use of chironomids as an indicator of the environmental state.	ditto		161-164	1994

2 口頭発表

発表者	題目	学会等名称	開催都市名	年月
T. Hanazato, M. Yasuno	Insights into competition in zoo-plankton communities derived from studies using experimental ponds.	24th Congr. Int. Assoc. Limnol.	Munich	1. 8
花里孝幸, 安野正之	脊椎捕食者と無脊椎捕食者の捕食作用が動物プランクトン群集構造に与える影響の解析	日本生態学会第36回大会	釧路	1. 8
花里孝幸, 安野正之	<i>Daphnia</i> 越冬個体群が春の動物プランクトン群集構造に与える影響の解析	日本陸水学会第54回大会	東京	1. 10
花里孝幸	捕食者フサカ幼虫の放出する化学物質に誘引されたミジンコの形態変化	日本陸水学会第55回大会	山形	2. 10
花里孝幸	捕食者フサカ幼虫の放出する化学物質がミジンコの生活史特性に与える影響	日本陸水学会第55回大会	山形	2. 10
花里孝幸, 安野正之	動物プランクトン群集に対する分解の早い殺虫剤の一時投与および連続投与の影響	日本陸水学会第55回大会	山形	2. 10
花里孝幸	湖の動物プランクトン群集に及ぼす捕食者の影響	琵琶湖研究所第9回水質予測研究会	大津	2. 10
花里孝幸	動物プランクトン群集に対する殺虫剤影響に及ぼすフサカ密度の影響	日本生態学会第38回大会	奈良	3. 4
花里孝幸, 笠井文絵	実験池生態系に及ぼす殺虫剤と除草剤の影響 II 動物プランクトン群集に対する影響	日本陸水学会第56回大会	奈良	3. 11
花里孝幸, 大井 高	フサカ幼虫の放出する化学物質とミジンコ-異なった濃度の化学物質に対するミジンコの形態的反応-	日本陸水学会第56回大会	奈良	3. 11
花里孝幸	農業がミジンコの尖頭形成を引き起こす	日本陸水学会第56回大会	奈良	3. 11
T. Hanazato	Chemicals inducing helmet development in <i>Daphnia ambigua</i> .	Am. Soc. Limnol. Oceanogr. 92, Spring Meeting	Santa Fe	4. 2
T. Hanazato	Complex effects of a kairomone of <i>Chaoborus</i> and an insecticide on <i>Daphnia pulex</i> .	Soc. Environ. Toxicol. Chem. Central Great Lakes Regional Chapter	Ann Arbor	4. 4



発表者	題目	学会等名称	開催都市名	年月
T. Hanazato	Effects of an insecticide on fresh water zooplankton communities.	US EPA Environ. Res. Lab. Sem.	Duluth	4. 8
T. Hanazato	Indirect effects of the predator <i>Chaoborus</i> on <i>Daphnia</i> populations through a kairomone.	Sem. Aqua. Ecol. Sys. Evol. Bio. Kent State Univ.	Kent	4. 9
T. Hanazato	Effects of the predator <i>Chaoborus</i> on <i>Daphnia</i> populations and freshwater communities through chemical signals.	Zool. Colloq. Univ. Wis.	Madison	5. 2
S.I. Dodson, T. Hanazato, P. Gorski	Swimming behavior of <i>Daphnia pulex</i> exposed to <i>Chaoborus</i> kairomones or pesticides.	Am. Soc. Limnol. Oceanogr. 93, Spring Meeting	Edmonton	5. 5
T. Hanazato	Indirect effects of the predator <i>Chaoborus</i> on <i>Daphnia</i> populations through chemical signals.	Sci. Conf. Baikal Eco-93	Irkutsk	5. 10
T. Hanazato	Interaction between organisms as an important factor affecting the pesticide effects on ecosystems.	Japan NIES-U.S. EPA Workshop	Tsukuba	5. 10
花里孝幸, S. I. Dodson	ミジンコに及ぼす殺虫剤, 捕食者のカイロモン, 貧酸素の複合影響	日本陸水学会第58回大会	松江	5. 11
T. Hanazato	Stability and diversity of a zooplankton community in experimental ponds.	Int. Workshop, Biodiversity: Its complexity and role	Tsukuba	5. 12
T. Hanazato, F. Kasai	Effects of a herbicide on biomass and structure of a zooplankton community	Internat. Congr. Ecol.	Manchester	6. 8
花里孝幸	ミジンコに及ぼす魚のカイロモンの影響	日本陸水学会第59回大会	八王子	6. 9
小田重人, 花里孝幸	魚から出される化学物質がフサカの幼虫におよぼす影響について	日本陸水学会第59回大会	八王子	6. 9
大井 高, 井沢新平, 楠見武徳, 花里孝幸	湖沼の捕食者-被食者間のカイロモン-ミジンコは超低濃度の捕食者フサカ幼虫由来物質を感知して形態を変える	日本化学会第68秋期年会	名古屋	6. 10
T. Hanazato	Significance of interactions between organisms in considering the effects of pesticides on lake zooplankton communities.	7th Internat. Symp. River Lake Environ.	Matsumoto	6. 10

発表者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
S. Hatakeyama, K. Satake, M. Miyashita, S. Fukushima	Macroinvertebrate communities in the heavy metal polluted rivers in the Shikoku district of Japan.	The 24th Congr. Int. Assoc. Theoret. & Appl. Limnol.	Munich	1. 8
畠山成久, 白石寛明, 菅谷芳雄	河川水の潜在的生態毒性の年間変動	日本陸水学会第54回大会	東 京	1. 10
畠山成久, 白石寛明, 小林紀雄	溪流の水生昆虫に及ぼす殺虫剤の空中散布の影響	日本陸水学会第54回大会	東 京	1. 10
畠山成久, 高村典子, 白石寛明, 福嶋 悟	低農薬及び農薬散布地帯を流れる河川の底生生物相の違い	日本陸水学会第55回大会	山 形	2. 10
畠山成久, 白石寛明	つくば市近辺の河川水の潜在的生態毒性とその原因物質に関して	日本陸水学会第55回大会	山 形	2. 10
畠山成久, 白石寛明, 浜田篤信	霞ヶ浦高浜入りと流入河川水の潜在的生態毒性の周年変化	日本陸水学会第55回大会	山 形	2. 10
畠山成久, 白石寛明, 笠井文絵, 福嶋 悟	河川の一次生産に及ぼす除草剤の影響モニタリング	日本陸水学会第56回大会	奈 良	3. 11
福嶋 悟, 畠山成久	除草剤総合毒性と人工基物上の藻類群集変動との関連について	日本陸水学会第56回大会	奈 良	3. 11
畠山成久, 上野隆平, 谷田一三, 小林紀雄	農薬汚染河川(砂川)に出現する水生昆虫の優占種とその変動について	日本陸水学会第56回大会	奈 良	3. 11
S. Hatakeyama, H. Shiraiishi	Effect of fenthion bound to the lake sediment on the growth and mortality of the freshwater shrimp, <i>Paratya compressa improvisa</i> .	Int. Conf. Land Water Interactions	New Delhi	3. 12
畠山成久, 福嶋 悟	水田地帯数河川の藻類生産に及ぼす除草剤の影響評価	日本陸水学会第57回大会	別 府	4. 10
畠山成久, 白石寛明, 福嶋 悟	河川水人工導入水路の藻類生産に及ぼす除草剤の影響	日本陸水学会第57回大会	別 府	4. 10
福嶋 悟, 畠山成久	河川水人工導入水路の藻類群集に及ぼす除草剤の影響	日本陸水学会第57回大会	別 府	4. 10
畠山成久	農薬類の河川生態系への影響評価に関して	第10回農薬環境科学研究会	草 津	4. 10

発表者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
S. Hatakeyama	Monitoring of herbicide and insecticide effects on aquatic organisms using <i>Selenastrum</i> and a freshwater shrimp.	1st SETAC World Congr.	Lisbon	5. 3
S. Hatakeyama	Assessment of overall pesticide effects on river ecosystem.	5th Jpn NIES-US EPA Workshop	Tsukuba	5. 10
畠山成久	カゲロウの成長・羽化に及ぼす農薬類複合汚染の影響	日本陸水学会第58回大会	松 江	5. 11
畠山成久	農薬汚染の水生昆虫に及ぼす影響評価	日本陸水学会第59回大会	八王子	6. 9
T. Iwakuma, K. Takamura, S. Nohara, H. Shiraishi	Dynamics of benthic communities in relation to pesticide concentrations in small rivers receiving agricultural run-off.	1st SETAC World Congr.	Lisbon	5. 3
笠井文絵, 高村典子, 畠山成久	藻類の農薬感受性の検討	日本陸水学会第55回大会	山 形	2. 10
笠井文絵, 市村輝宜	砂川水系(山形県高島町)におけるミカヅキモ個体群の季節変動	日本藻類学会第15回大会	西 原	3. 3
笠井文絵, 花里孝幸	実験池生態系に及ぼす殺虫剤と除草剤の影響 I. 植物プランクトン群集に対する影響	日本陸水学会第56回大会	奈 良	3. 11
笠井文絵, 花里孝幸	実験池生態系に及ぼす殺虫剤と除草剤の影響 III. 春の植物プランクトン群集に対する影響	日本陸水学会第57回大会	別 府	4. 10
F. Kasai	Responses of phytoplankton communities to a herbicide, simetryn in experimental ponds.	1st SETAC World Congr.	Lisbon	5. 3
笠井文絵, 花里孝幸	除草剤の連続的暴露に対する植物プランクトン群集の反応	日本陸水学会第58回大会	松 江	5. 11
笠井文絵, 花里孝幸	殺虫剤の連続投与に対する植物プランクトン群集の反応	日本陸水学会第59回大会	八王子	6. 9
野原精一, 岩熊敏夫	霞ヶ浦河口域における農薬の動態	日本陸水学会第55回大会	山 形	2. 10
野原精一, 花里孝幸	成層湖, 茨城県中沼の陸水生物の研究 4. 農薬の挙動	日本陸水学会第56回大会	奈 良	3. 11

発表者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
菅谷芳雄	数種のユスリカの殺虫剤感受性	日本陸水学会第57会大会	別 府	4. 10
菅谷芳雄	セスジユスリカの殺虫剤抵抗性と野外での生態	日本陸水学会第58会大会	松 江	5. 11
菅谷芳雄	セスジユスリカの農薬耐性と影響	日本陸水学会第59会大会	八王子	6. 9
多田 満, 白石寛明	農薬流入時期における河川底生動物群集の変動	日本農薬学会第16回大会	名古屋	3. 3
多田 満, 畠山成久	水生昆虫数種の殺虫剤に対する種特異的 感受性	日本農薬学会第16回大会	名古屋	3. 3
多田 満	河川に残留する殺虫剤の水棲昆虫に及ぼす影響	第3回筑波殺虫剤研究会	つくば	3. 6
多田 満	シマトビケラ幼虫の行動生態に及ぼす殺虫剤の低濃度暴露影響	日本農薬学会第18回大会	府 中	5. 3
多田 満	農薬の河川底生動物への影響—その生態、 行動や生理学的影響—	水生昆虫談話会第135回例会	つくば	5. 8
多田 満	農薬の河川底生動物に及ぼす影響	日本陸水学会第59会大会	八王子	6. 9
高村健二	界面活性剤による河川棲ユスリカ羽化の抑制	日本陸水学会第54会大会	東 京	1. 10
K. Takamura	Teganuma, the most polluted Japanese lake with low macrozoobenthos biomass.	5th Int. Congr. Ecol.	Yokohama	2. 8
高村健二	ヤゴは無農薬を指標する—山形県高島町砂川水系における分布—	日本陸水学会第55会大会	山 形	2. 10
高村健二	水田棲ユスリカの種別・令別個体数変動	日本陸水学会第56会大会	奈 良	3. 11
高村典子, 笠井文絵, 白石寛明, 畠山成久	山形県高島町における無農薬水田と農薬 散布水田での藻類群集の違い	日本陸水学会第55会大会	山 形	2. 10
上野隆平, 岩熊敏夫, 多田 満, 野原精一	中流域河川の底生動物相と河床形態及び水生植物の関係	日本陸水学会第54会大会	東 京	1. 3
上野隆平, 高村健二, 岩熊敏夫	農地排水・生活排水が流入する河川の <i>Chironomus yoshimatsui</i> について	日本陸水学会第55会大会	山 形	2. 10
上野隆平	乙戸川の <i>C. yoshimatsui</i> の流下に影響する環境要因について	日本陸水学会第56会大会	奈 良	3. 11

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
M. Yasuno	Significance of interactions among organisms in aquatic ecosystems as the response to pesticide contamination.	US-Jpn. Pestic. Semin.	Maryland	2. 8
M. Yasuno, S. Fukushima, Y. Sugaya	Monitoring of benthic flora and fauna in channels draining a sewage plant.	6th Int. Bioindicators Symp.	Dublin	2. 9
M. Yasuno	Standardization of test organisms and development of toxicity tests methods.	The 12th Annu. Meet. & Acad. Conv. The Korean Soc. Environ. Toxicol.	Seoul	5. 6

平成5年度編集小委員会

委員長	高松武次郎	委員	瀬山春彦
委員長代理	松本幸雄	〃	鈴木明
委員	栗原崇	〃	鶴野伊津志
〃	原島省	〃	田中浄
〃	永田尚志	〃	大坪園順
〃	高橋慎司	事務局	名取美保子
〃	山形与志樹		

REPORT OF SPECIAL RESEARCH FROM  
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立環境研究所特別研究報告

S R - 19 - '95

平成7年3月31日発行

編集 国立環境研究所 編集小委員会

発行 環境庁 国立環境研究所

〒305 茨城県つくば市小野川16番2

電話 0298-51-6111(代表)

印刷 谷田部印刷株式会社

〒305 茨城県つくば市大字谷田部1979-1

Published by the National Institute for Environmental Studies

16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305 Japan

March 1995

本報告書は再生紙を使用しています。