

マイクロコズムによる殺菌剤カルベンダジムの生態系影響解析

千葉工業大学	生命環境科学科	学員	○宇田川菜南
千葉工業大学	生命環境科学科	正員	村上和仁
相模女子大学	栄養科学科		杉浦 桂
福島大学	共生理工学類		稲森悠平

1. 背景・目的

農薬は農作物の安定供給・長期保存を目的として、近代化された農業では大量に使用されている。しかし、我が国では農薬使用による微生物への基準値は定められているが、生態系への基準値は設けられていない。そこで本研究では、フラスコサイズの培養モデル（マイクロコズム）を用いて PRTR 制度の対象物質である殺菌剤カルベンダジムの生態系に及ぼす影響を評価することを目的とした。

2. 方法

2-1 マイクロコズム

マイクロコズムとは制御環境条件下で個体群または群集をある容器内で培養した模擬生態系のことである。実験操作が可能で、再現性が高いため生態系への影響評価の手法として適している。今回用いた Gnotobiotic 型マイクロコズムは構成種が既知のものであり、生産者として植物プランクトン 3 種、捕食者として動物プランクトン 4 種、分解者として 4 種の細菌類の計 11 種の組み合わせで構成されている（図 1）。



図 1 マイクロコズムの概要

2-1 培養方法

300ml フラスコに TP 培地（Taub+ペプトン培地）を 200ml 注ぎ、マイクロコズムの種 10ml を添加した Gnotobiotic 型マイクロコズムを用い、温度 25℃、照度 2,400Lux（明 12hr 暗 12hr）の静置条件で 30 日間培養を行った。

2-2 対象物質

対象物質はベンレート水和剤とした。ベンレート水和剤はベノミル約 50%を主成分とするカルベンダジムの主要な製品であり、ベノミルは水中で 2 時間の半減期をもってカルベンダジムへと変換される。

添加濃度は非添加系（0ppm）と添加系（0.1ppm、1ppm、3ppm、5ppm、10ppm）を設定し、培養開始 16 日目に添加した。

2-3 評価項目

光学顕微鏡により培養開始 0, 2, 4, 7, 14, 16, 18, 20, 23, 30 日目にプランクトン観察を行い、対象物質の添加前後でフラスコ内にどのような変化がみられるかを観察した。また培養期間中は DO を連続測定し、P/R 比（生産/呼吸）による機能面での評価も行った。

2-4 評価方法

対象物質の添加によって P/R 比の挙動パターン、プランクトン個体数など生態系にどのような影響を及ぼすかについて、添加系と非添加系（対照系）を比較して評価を行った。評価方法としてはプランクトン個体数（構造パラメータ）と DO、P/R 比（機能パラメータ）による添加系と非添加系の比較を行った。

3. 結果及び考察

3-1 個体数による評価（構造パラメータ）

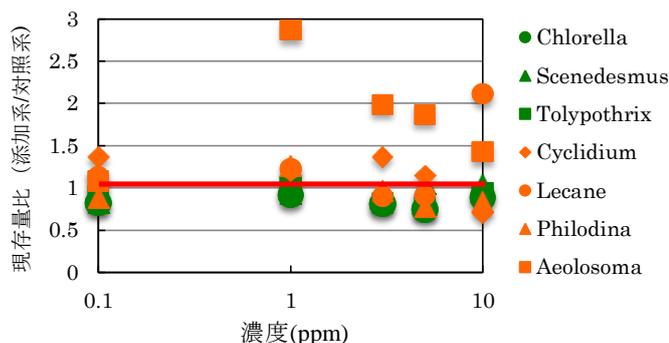


図 2 急性影響時（B<sub>16-20</sub>）の生物量比の変化

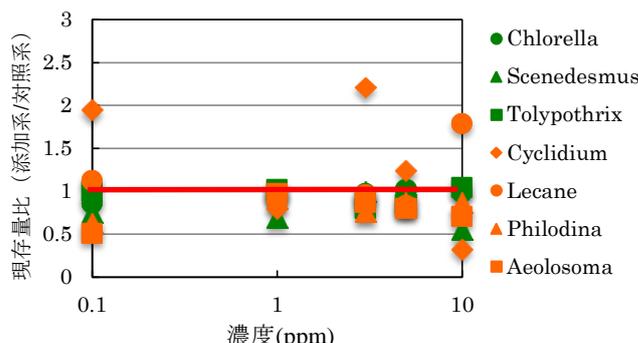


図 3 亜急性影響時（B<sub>20-23</sub>）の生物量比の変化

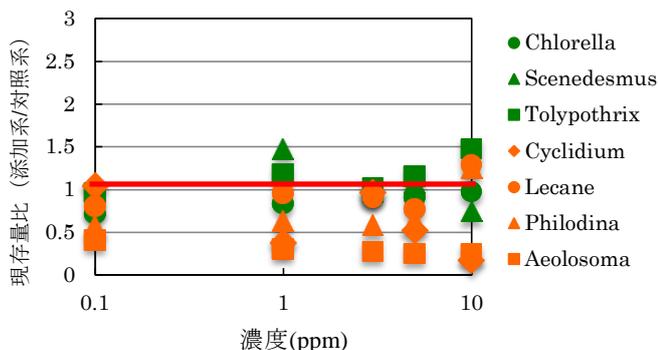


図4 慢性影響時 (B<sub>23-30</sub>) の生物量比の変化

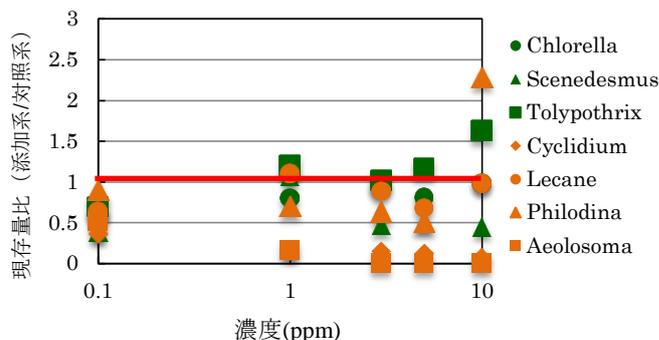


図5 培養開始 30 日目 (N<sub>30</sub>) の生物量比の変化

添加後の 14 日間を急性影響 (0~4 日) B<sub>16-20</sub>、亜急性影響 (5~7 日) B<sub>20-23</sub>、慢性影響 (8~14 日) B<sub>23-30</sub>、培養開始 30 日目の生物現存量 N<sub>30</sub> として評価を行った。その結果、急性影響時と亜急性影響時には生物の大幅な減少や死滅がみられなかったが、慢性影響時に 1ppm 以上の添加系において *Cyclidium glaucoma* と *Aeolosoma hemprichi* の大幅な減少がみられた (図 2~4)。また、植物プランクトンには大きな増減はなく影響がみられない。これはカルベンダジムが殺菌剤であるため、まずマイクロコズム内の分解者である細菌に影響し、その後それらを捕食する動物プランクトンに大きく影響し、生産者である植物プランクトンには影響が少なかったと考えられる。

また N<sub>30</sub> でも、高濃度になるにつれて動物プランクトンの減少や死滅がみられたが、10ppm 添加系において *Philodina erythrophthalma* の増加がみられた。これは 10ppm では、他の添加系より早い段階で同じ消費者である *Cyclidium glaucoma* と *Aeolosoma hemprichi* の死滅がみられたため、それらの消費者を補い、系を維持するために増加したと考えられる (図 5)。

3-2 DO、P/R 比による評価 (機能パラメータ)

高濃度になるにつれて DO の振幅が減衰しており、系の活性がやや低下傾向にある (図 6)。しかし、P/R 比ではすべての系が 1 付近で安定している (図 7)。

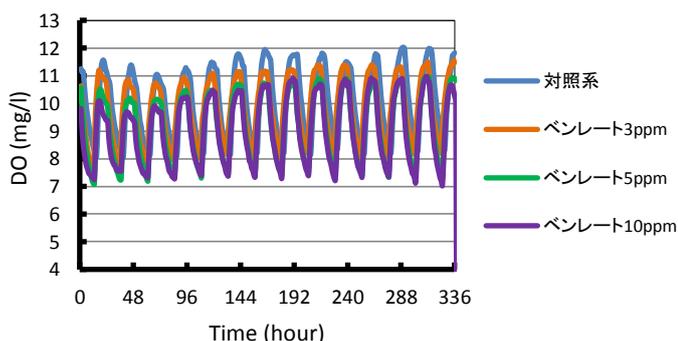


図6 各系における DO の推移

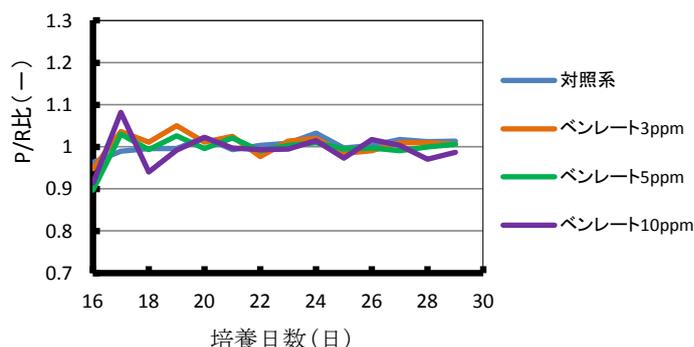


図7 各系における P/R 比の推移

4. まとめ

- 1) プランクトン個体数変動 (構造パラメータ) では、1ppm 以上で *Cyclidium graucoma* と *Aeolosoma hemprichi* の半数以上の減少や死滅がみられたため、構造パラメータにおける m-NOEC (マイクロコズム最大無影響濃度) は 0.1ppm 以上 1ppm 未満と評価された。
- 2) DO、P/R 比 (機能パラメータ) では、すべての系が P/R 比=1 付近で安定していた。これより、マイクロコズム内の生態系は安定していると評価されたため、機能パラメータにおける m-NOEC は 10ppm 以上であると考えられた。
- 3) マイクロコズム実験におけるカルベンダジムの構造パラメータおよび機能パラメータの m-NOEC は異なる結果となった。

追記：本研究は、日本学術振興会平成 24~26 年度科学研究費助成事業 (学術研究助成基金助成金) (挑戦的萌芽研究)「(課題番号 24651029) 移入種生物がもたらす生態系影響評価のためのモデルエコシステムの汎用化に関する研究」および平成 24~25 年度日本化学工業協会新 LRI (2012PT4-2)「マイクロコズムを活用した化学物質の生態系リスク評価システム手法の開発」の一環として実施された。