

マイクロコズムによるネオニコチノイド系農薬（10 種混合）の生態系影響評価

千葉工業大学 生命科学科 学員 ○松本尚也
千葉工業大学 生命科学科 正員 村上和仁

1. 目的

ネオニコチノイド系農薬とは、ニコチノイドと言われるニコチンに似た成分をベースとする殺虫剤の総称である。選択的に昆虫に毒性を示し、1990 年代以降、世界各地で使用されてからミツバチの大量死や赤トンボが激減し、ネオニコチノイド系農薬が原因としてあげられている。また、地球表層水への流出による水生生物への影響が懸念されている。我が国では、11 種のネオニコチノイド系農薬が登録されているが、これらの物質の評価データは単一生物試験によるものがほとんどであり、生態系への影響については不明な部分が多い。

本研究ではフラスコサイズの培養モデルであるマイクロコズムを用いて 10 種混合のネオニコチノイド系農薬の m-NOEC（マイクロコズム最大無影響濃度）から生態系に及ぼす影響を検討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、生態系における物理、化学、生物的要因とそれらの相互作用の一部を包含しており、現場現象をエコシステムレベルで解析できる模擬生態系である。本研究で用いた Gnotobiotic 型マイクロコズムは生産者として植物プランクトン（3 種）、分解者としてバクテリア（4 種）、捕食者として動物プランクトン（4 種）から構成されており、目的に応じて培養条件の実験操作が可能であり、再現性が高く、環境の影響評価に適している（図 1）。

2.2 培養方法

300mL フラスコに TP 培地 (Taub+Pepton 培地) 200mL とマイクロコズムの種 10mL を添加し、温度 25℃、照度 2400lux、明暗周期 12 時間で 30 日間静置培養を行った。

2.3 添加物質

対象物質はネオニコチノイド系農薬混合標準液（富士フイルム和光純薬(株)）を使用した。成分はアセタミプリド、イミダクロプリド、チアクロプリド、チアクロプリド-アミド、ニテンピラム、CPF、CPMF、クロチアニジン、チアメトキサム、ジノテフランの 10 種混合で、各々 20mg/l である。本研究ではこの試薬を純水で希釈し、マイクロコズムが安定する 16 日目に添加した。添加濃度は添加後のマイクロコズム内の濃度が 0mg/l (対照系), 0.5mg/l, 1.0mg/l, 2.0mg/l, 4.0mg/l, 8.0mg/l となるように添加した。

2.4 評価方法

評価項目は、顕微鏡観察によるプランクトン個体数（構造パラメータ）と DO 計測（機能パラメータ）とした。顕微鏡観察は培養開始から 0、2、4、7、14、16、18、20、23、30 日目に行った。DO は 16 日目の農薬添加後から 30 日まで連続的に測定し、生産量 (P) と消費量 (R) より P/R 比を算出し、枝分かれ型分散分析にて評価した。

3. 結果および考察

3.1 構造パラメータによる評価

プランクトン観察より、いずれの添加系においても死滅した生物種はみられなかった（図 2～4）。

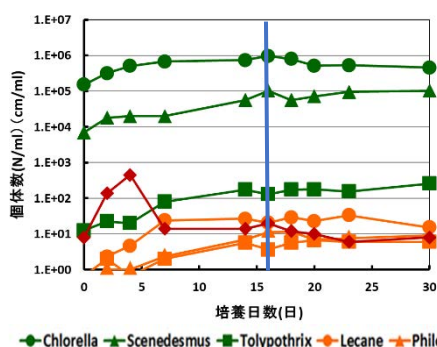


図 2 対照系の個体数変遷

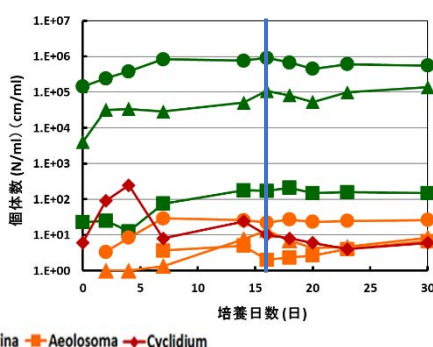


図 3 1.0mg/l 添加系の個体数変遷

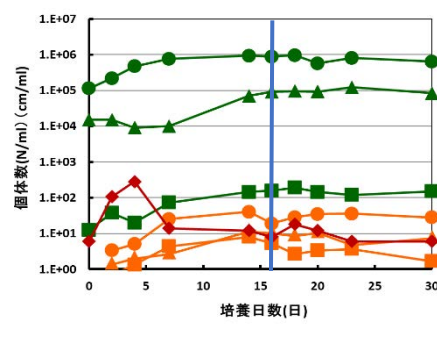


図 4 8.0mg/l 添加系の個体数変遷

キーワード：マイクロコズム ネオニコチノイド殺虫剤 生態系影響評価 m-NOEC

〒275-8588 千葉県習志野市津田沼 2-17-1(千葉工業大学生命科学科) TEL:047-478-0455 FAX:047-478-0455

3.2 機能パラメータによる評価

各添加濃度における DO の経時変化より、添加濃度が高くなるにつれて低い値を示した。P/R 比とはマイクロコズム内の酸素の生産と消費の比を表したものであり、マイクロコズムの P/R 比は自然生態系と同様の 1 となる性質を有する。高濃度の添加系では計測開始にばらつきがみられたが、その後は 1 付近で安定しているため、生態系としての機能は保たれていると考えられた (図 5～8)。

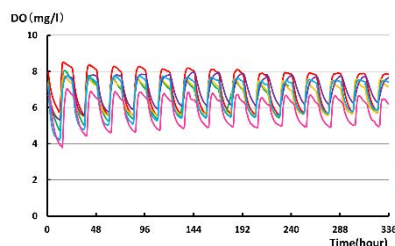


図 5 各添加濃度における DO の経時変化

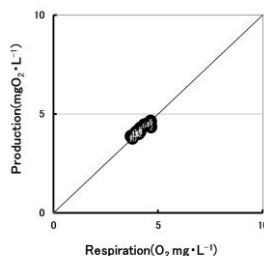


図 6 対照系の P/R 比

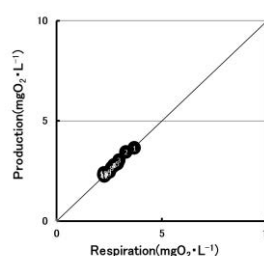


図 7 1.0mg/l 添加系の P/R 比

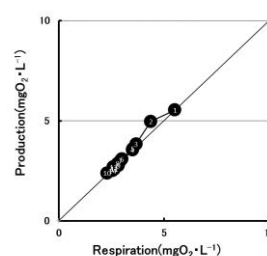


図 8 8.0mg/l 添加系の P/R 比

3.3 枝分かれ型分散分析による評価

枝分かれ型分散分析とは、フラスコ間差を確率変数とみなした分散分析のことである。(図 9) 添加系や対照系を振り分け、時間を含めた実験条件を考慮した検定方法である。すべての値の平均による分散分析を群といい、時間ごとの分散分析を交互作用という。

枝分かれ型分散分析より、すべての添加濃度の消費量と生産量の交互作用で影響ありと評価された。そのため 10 種混合農薬の m-NOEC は $m\text{-NOEC} < 0.5 \text{ mg/l}$ と評価された。(表 1)

先行研究のイミダクロプリド (表 2)、ジノテフラン (表 3)、クロチアニジン (表 4) の m-NOEC はそれぞれ $1.6 \text{ mg/l} \leq m\text{-NOEC} < 3.2 \text{ mg/l}$ の範囲、 $1.0 \text{ mg/l} \leq m\text{-NOEC} < 1.75 \text{ mg/l}$ の範囲、 $7.5 \text{ mg/l} \leq m\text{-NOEC} < 10 \text{ mg/l}$ の範囲と評価された。10 種混合農薬を添加したマイクロコズムは単一の農薬を添加したマイクロコズムよりも低い濃度でも影響ありと評価された。生物の生存には影響がみられないが、活性が低下するということが判明した。生態系はすべての生物が密接に関係している。また、プランクトンは物質循環や食物連鎖など生態系の機能に大きく関与している。そのため、混合農薬は低濃度であってもこれらすべてに影響を与えると考えられた。

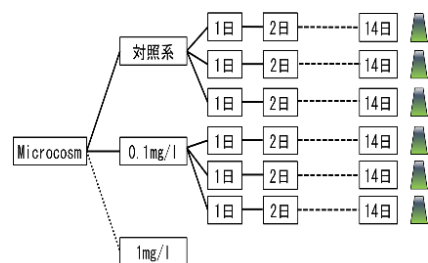


図 9 枝分かれ型分散分析イメージ

表 1 10 種混合農薬の枝分かれ型分散分析

添加濃度 (mg/l)		P/R 比	消費量	生産量	評価
0.5	群	○	○	○	×
	交互作用	○	×	×	
1.0	群	○	○	○	×
	交互作用	○	×	×	
2.0	群	○	○	○	×
	交互作用	○	×	×	
4.0	群	○	○	○	×
	交互作用	○	×	×	
8.0	群	○	○	○	×
	交互作用	○	×	×	

○…影響なし ×…影響あり

表 2 イミダクロプリドの枝分かれ型分散分析

添加濃度 (mg/l)		P/R 比	消費量	生産量	評価
1.6	群	○	○	○	○
	交互作用	○	○	○	
3.2	群	○	○	○	×
	交互作用	×	×	×	

表 3 ジノテフランの枝分かれ型分散分析

添加濃度 (mg/l)		P/R 比	消費量	生産量	評価
1.0	群	○	○	○	○
	交互作用	○	○	○	
1.75	群	○	○	×	×
	交互作用	×	×	×	

表 4 クロチアニジンの枝分かれ型分散分析

添加濃度 (mg/l)		P/R 比	消費量	生産量	評価
7.5	群	○	○	○	○
	交互作用	○	○	○	
10	群	○	○	○	×
	交互作用	○	×	×	

4. まとめ

ネオニコチノイド系農薬 (10 種混合) を添加したいずれの系においてもプランクトンの死滅はみられなかった。DO は高濃度で添加した系ほど低下する傾向であったが P/R 比は 1 付近で安定していたため、生態系としての機能に影響はないと評価された。枝分かれ型分散分析より、10 種混合農薬は先行研究で行った単一の農薬のマイクロコズム試験よりも低い濃度でも影響ありと評価された。複数種の農薬が同時に添加された場合、生物の生存には影響がみられないが、活性が低下するということが判明した。生態系はすべての生物が密接に関係している。また、プランクトンは物質循環や食物連鎖など生態系の機能に大きく関与している。そのため、混合農薬は低濃度であってもこれらすべてに影響を与えると考えられた。

参考文献

- 1) 田中美波ら：マイクロコズムによるネオニコチノイド殺虫剤 (イミダクロプリド・ジノテフラン・クロチアニジン) の生態系影響評価における比較、第 47 回土木学会関東支部技術研究会講演要旨集 (2020)
- 2) Yuhei Inamori ed.: Microcosm Manual for Environmental Impact Risk Assessment-From Chemicals to Whole Effluent Toxicity(WET), Springer, New York (2019)