

## 〈研究発表〉

# 琵琶湖由来ミジンコを用いた急性遊泳阻害試験とオオミジンコとの比較

## —— 数種化学物質における急性毒性値の比較 ——

中村 昌文<sup>1)</sup>, 北島 隆<sup>1)</sup>, 林 芳和<sup>1)</sup>, 西田 昌代<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 株式会社 (〒523-8555 滋賀県近江八幡市北之庄町 908 番地 E-mail: m.nakamura@hiyoshi-es.co.jp)

### 概要

琵琶湖から分取された *Daphnia pulicaria* による急性遊泳阻害試験を実施した。加えて、OECD テストガイドライン (TG-202) で推奨されている *Daphnia magna* との試験結果を比較することにより、琵琶湖におけるミジンコへのリスク評価の有用性を調べることにした。本試験では、硫酸銅五水和物並びに農薬キノンドーフロアブルの銅関連化合物において両種間で3.2倍並びに2.5倍の毒性差が認められた。このことにより、*D. pulicaria* は銅関連化合物に対して *D. magna* より高い毒性反応を示すことも考えられる。

キーワード：急性毒性遊泳阻害試験, 生態影響試験, ミジンコ, リスク評価, 琵琶湖

## 1. はじめに

化学物質等のミジンコへの急性毒性値は、*Daphnia magna* に関するものが多く、これらは水生無脊椎動物への影響評価予測にも利用されている。然しながらこれらの毒性値が、琵琶湖等の特定地域に生息する無脊椎動物に対しても有効なリスク評価値となっているかが疑問である。その要因の一つとして、これらの生物間における毒性を比較したデータが少ないことがあげられる。

弊社が所在する滋賀県においても、琵琶湖の水系生態系の影響に関しては、「ふるさと滋賀の野生動植物との共生に関する条例」の制定などを通して外来生物種に対しては目がむけられているが、化学物質などによる琵琶湖在来種への影響については特に多くの議論がされていないと考えられる。

今回我々は、琵琶湖から分取されたミジンコ種による急性遊泳阻害試験を実施した。加えて、OECD テストガイドライン (TG-202) で推奨されている *Daphnia magna* との試験結果を比較することにより、琵琶湖におけるミジンコへのリスク評価の有用性を調べることにした。

## 2. 方法

琵琶湖由来のミジンコ種は、滋賀県琵琶湖環境科学センターの一瀬諭氏が琵琶湖北湖深層部より分離した *Daphnia pulicaria* を用いた。*D. pulicaria* は、親動物の体長が1.5~3.0 mm であり、*Daphnia pulex* に近縁

した種にて頭部前縁から吻端の曲線が滑らかであることが特徴の種である。*D. magna* は、国立環境研究所から購入した NIES 系統を用いた。

被験物質は、ミジンコ急性遊泳阻害試験での供試動物の有用性の確認目的で一般的に利用されている化合物として、ニクロム酸カリウム並びに硫酸銅五水和物を選抜した。またこれら2物質に加えて、須戸らの調査<sup>1)</sup>により滋賀県内の河川において最大0.012 mg/L が検出されている農薬殺菌剤のメトミノストロピンと硫酸銅五水和物試験の結果からその他の銅化合物の影響を確認する目的のために、オキシシン銅35%を含むキノンドーフロアブル (キノンドー FL) 製剤を選抜して供試した。

ミジンコ試験は、OECD TG-202 のミジンコ類急性遊泳阻害試験に準じて以下のように行った。

試験は、止水方式にて48時間曝露を行った。水温は19~21℃の範囲にて、希釈水として市販ミネラルウォーター (アサヒ飲料おいしい水六甲) を用いた。ミジンコの仔虫 (生後24時間以内) 各5頭を、試験液30 mL を入れた容器 (100 mL ビーカー) に放し、16時間明期/8時間暗期の照明下に静置した。試験では各濃度とも4連容器を設定し、各々の被験物質での *D. pulicaria* および *D. magna* 試験は共に2~3回反復実施した。各試験では、曝露開始時と終了時に溶存酸素濃度と pH を測定した。また試験期間中の水温は、温度データロガーにて測定並びに記録をした。

試験液は、各被験物質とも予め適当な高濃度の仕込み液を調製し、これらの適量を分取して希釈する方法にて調製した。また、硫酸銅五水和物並びにニクロム

酸カリウムについては、試験水中の被験物質濃度を、誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP/MS) を用いて測定し確認した。

EC50 値は、Probit 法により求めた。また *D. pulicaria* および *D. magna* の各毒性値は、t 検定による統計比較を行った。

### 3. 結 果

Table 1 に結果を示す。硫酸銅五水和物とキノンドー FL の試験において、*D. pulicaria* と *D. magna* との間に 3 倍近い毒性差が検出された。

Table 1 Toxicity comparison of test substances by *aphnia pulicaria* and *Daphnia magna*

物質名	試験生物	48hr EC50 <sup>2)</sup> (mg/L)	48hr 毒性比*
硫酸銅五水和物	<i>Daphnia magna</i>	0.119	3.2
	<i>Daphnia pulicaria</i>	0.0377	
ニクロム酸カリウム	<i>Daphnia magna</i>	0.132	0.98
	<i>Daphnia pulicaria</i>	0.135	
メトミノストロビン	<i>Daphnia magna</i>	5.11	0.96
	<i>Daphnia pulicaria</i>	5.34	
キノンドーFL (35%含有製剤)	<i>Daphnia magna</i>	0.81	2.5
	<i>Daphnia pulicaria</i>	0.33	

注：\*： *Daphnia magna* EC50値/*Daphnia pulicaria* EC50値

*D. pulicaria* と *D. magna* 試験との間で有意差が確認された硫酸銅五水和物とキノンドーフロアブル製剤の 48 時間後の遊泳阻害率と試験濃度間の比較を、Fig. 1 および Fig. 2 に示す。また、有意差が検出されなかったニクロム酸カリウムの例を、Fig. 3 に示す。

試験液の濃度分析では、硫酸度五水和物並びにニクロム酸カリウムの試験水中濃度が、何れも設定濃度の 96~112% にあったことを確認した。

今回のミジンコ急性遊泳阻害試験では、全期間を通して、溶存酸素濃度は 8.3~9.5 mg/L の範囲にあり、pH は 7.65~8.12 の範囲にあった。

また、日吉における *Daphnia magna* 試験結果の有効性については、今回試験にて得られた毒性値と既存の文献値との比較を行い、Table 2 に示した。

本試験にて用いた硫酸銅五水和物並びにニクロム酸カリウムについては、試験液の総硬度によってミジンコ毒性値が変動することが知られており、総硬度値の上昇と共に毒性も弱く発現する傾向にある。文献での試験液の硬度が確認出来なかったことから、これら物質についての数値は、単純に比較できないもののニクロム酸カリウムの 48hrEC50 値 0.18 mg/L を軟水試験での結果とした場合には、今回の結果と近似する。また試験液の総硬度による影響を受けないメトミノスト

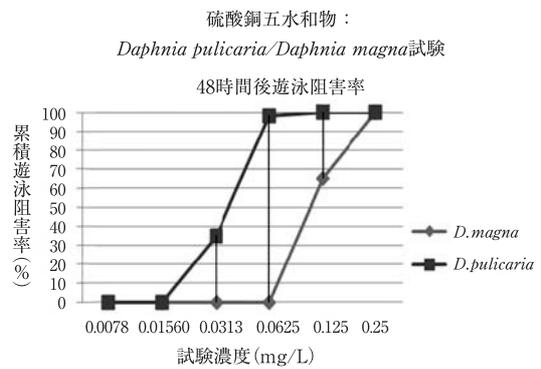


Fig. 1 Comparison of immobilization of *D. pulicaria* and *D. magna* by copper (II) sulfate pentahydrate

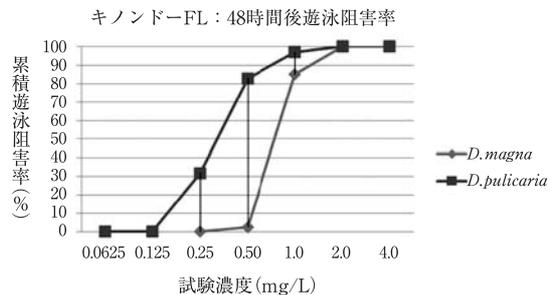


Fig. 2 Comparison of immobilization of *D. pulicaria* and *D. magna* by Oxyquinoline Copper (35%) flowable (Pesticide)

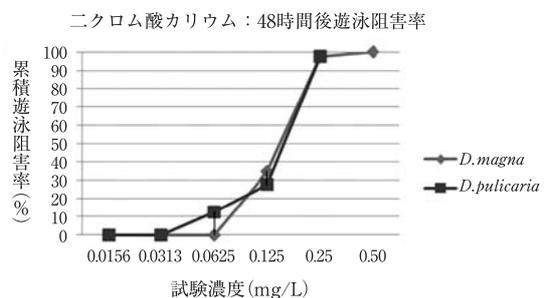


Fig. 3 Comparison of immobilization of *D. pulicaria* and *D. magna* by Potassium dichromate

Table 2 Comparison of acute toxicity of *Daphnia magna* to test substances

被験物質	毒性値出所	総硬度 (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	48hr EC50 (mg/L)
硫酸銅五水和物	日吉	32	0.120
	MSDS/US	?	0.18
ニクロム酸カリウム	日吉	32	0.132
	ECETOC等	軟水~硬水	0.18 ~ 0.75
メトミノストロビン (農業、殺菌剤)	日吉	32	3.51
	農業抄録	?	4.86
キノンドー 35%フロアブル (農業製剤、殺菌剤)	日吉	32	0.277 (a.i.)
	中央環境審議会資料 (オキシニ銅)		0.235

ロビンでの試験結果は、文献 (農業抄録) での毒性値と近似した結果となっていた。

## 4. 考 察

本試験では、硫酸銅五水和物並びにキノンドー FL の銅関連化合物において両種間で3.2倍並びに2.5倍の毒性差が認められた。このことにより、*D. pulicaria* は銅関連化合物に対して *D. magna* より高い毒性反応を示すことも考えられる。

## 5. ま と め

- 1) *D. pulicaria* は、48時間 EC50 値の比較において、*D. magna* の試験結果より硫酸銅五水和物で3.2倍、キノンドー FL で2.5倍高い毒性を示した。
- 2) ニクロム酸カリウムおよび農薬殺菌剤の活性成分メトミノストロピンでは、*D. pulicaria* およ

び *D. magna* の間に毒性値の差異は認められなかった。

今回の試験結果をふまえ、比較的古い時期のデータ毒性値が利用されているカドミウム、ニッケル、鉛等のその他の金属化合物についても、急性毒性試験の調査を行っていくことを予定している。

## 参 考 文 献

- 1) 須戸 幹 河川整備基金助成事業報告, 水田に施用される殺虫剤・殺菌剤の琵琶湖における残留とリスク低減対策 (平成23年度)
- 2) Statistical Approach to Predicting Chronic Toxicity of Chemicals to Fishes from Acute Toxicity Data, F.L. Mayer, G.F. Krause, M.R. Ellersieck, and G. Lee, EPA/600/SR-92/091, August 1992