

論文題目：土壤生態系における農薬の蓄積性に関する研究

—モグラにおける蓄積実態とミミズにおける蓄積性を中心として—

著者：後藤裕子

研究科、専攻名：環境科学研究科 環境動態学専攻

学位記番号：環課第31号

博士号授与年月日：2012年3月16日

論文の要旨

化学物質の中でも、農薬は環境中に意図的に放出され、季節的に集中して使用されるため、非標的生物への影響が懸念される物質である。しかし、土壤生態系に与える影響に言及した報告はほとんど見られない。本研究は、土壤、ミミズ、モグラの食物連鎖に着目して、農地に散布された農薬が土壤に残留した場合の土壤生態系での農薬の蓄積性を検討することを目的とした。

1. 生物試料からの農薬抽出法の開発

土壤生態系での農薬の蓄積性を明らかにするための生物試料の農薬抽出法の開発を行った。抽出方法として、環境省によって定められている水生生物試料からの農薬抽出公定法、生物試料の脂肪成分抽出法を応用した農薬抽出法、高速溶媒抽出装置（ASE）を用いた農薬抽出法（高速溶媒抽出法）の3種類を検討した。

公定法での標準品の添加回収試験の回収率は、11種類の農薬で29～50%であった。脂肪成分抽出法を応用した農薬抽出法では、標準品の添加回収試験の回収率は平均で40%で、回収率が高い一部のものはばらつきが大きかった。高速溶媒抽出法による標準品の添加回収試験の回収率は、25種類の農薬で62～113%であった。OECDのGLP基準では70～120%の回収率を得られる方法での抽出を推奨しており、高速溶媒抽出法が最も適した生物試料の農薬抽出法であると考えられた。

2. モグラの肝臓における農薬の蓄積

開発した高速溶媒抽出法を用いてモグラの肝臓中の農薬濃度を測定した。農薬濃度の測定に用いたモグラは35検体で、農薬が散布されていると予想される水田畦畔、ゴルフ場および果樹園、農薬が散布されていないと予測される山林、自然林および芝地で捕獲された。また、水田畦畔、ゴルフ場および果樹園における排水や土壌中の農薬の残留濃度から、農薬の散布履歴を検討した。分析対象とした24種類のうち、モグラの捕獲地で散布されたと考えられる農薬は18種類であったが、35検体いずれのモグラの肝臓からも分析対象農薬は検出されなかった。これは、農薬の散布地が個々のモグラの捕獲地と異なったことや、農薬の散布時期（除草剤；4月下旬～6月上旬、殺虫剤；5月初旬～中旬、殺菌剤；7～8月）がモグラの捕獲時期（35個体中22個体で秋～冬）と異なり、捕獲時には散布農薬がすでに土壌中から消失していた可能性や、取り込まれた農薬がモグラの体内で代謝、分解の作用を受けた可能性が考えられた。

3. ミミズの飼育土壌の検討

ミミズの除草剤蓄積性を検討するためのミミズの飼育方法を検討した。シマミミズ 10 匹を用いて OECD のテストガイドラインで推奨されている人工土壌で 28 日間飼育を行うとともに、水田土壌でもシマミミズ 10 匹を 7 日間および 28 日間飼育して除草剤曝露蓄積実験に最適な飼育土壌を検討した。その結果、人工土壌で飼育したシマミミズの 1 匹あたりの重量は 28 日後に 2/3~1/2 に減少し、個体数が半減したものも見られた。一方、水田土壌で飼育したシマミミズの 1 匹あたりの重量および個体数は 7 日後、28 日後ともに大きな減少は見られなかったことから、人工土壌よりも水田土壌がミミズの飼育に適していると考えられた。

4. 除草剤のミミズにおける蓄積

モグラの肝臓から農薬が検出されなかったことから、土壌生態系の上位への農薬の移行は起きていない可能性が示唆された。しかし、モグラより下位のミミズでの農薬の蓄積性は不明であることから、ミミズの除草剤蓄積性を検討した。

農薬などの化学物質の蓄積性試験にはシマミミズの使用が推奨されているが、シマミミズは日本の優占種ではない。シマミミズと日本の優占種との農薬蓄積性が同じであれば、シマミミズの試験結果から日本のミミズや土壌生態系に対する影響を評価することができる。そこで、日本の優占種であるフトミミズも試験対象種とした。

まず 6 種類の除草剤 (Butachlor、Mefenacet、Oxadiazon、Thiobencarb、Trifluralin、Pendimethalin) を用いてシマミミズとフトミミズでの蓄積性の有無を確認した。土壌や濃度条件はそれぞれのミミズに対する曝露実験で異なったが、7 日および 28 日間曝露したところ、シマミミズで 4 種類 (Oxadiazon、Thiobencarb、Trifluralin、Pendimethalin)、フトミミズで 2 種類 (Trifluralin、Pendimethalin) の除草剤の蓄積が認められた。また、ミミズおよび土壌中の除草剤濃度から求めた生物蓄積係数 (BAF) を 7 日後と 28 日後で比較すると、いずれのミミズでも有意な差は見られなかった (t 検定、 $p>0.05$) ことから、ミミズは 7 日間で定常状態に達すると推測された。

次に、いずれのミミズでも蓄積が確認された Trifluralin、Pendimethalin の蓄積性をシマミミズとフトミミズで比較した。土壌と濃度などの曝露条件を同一にして 7 日間飼育したところ、Trifluralin、Pendimethalin の BAF はシマミミズで 13.3 ± 3.94 、 3.24 ± 1.85 、フトミミズで 0.99 ± 0.51 、 0.30 ± 0.07 で、いずれの除草剤でもフトミミズの BAF はシマミミズに比べて有意に小さかった (Trifluralin ; $p<0.01$ 、Pendimethalin ; $p<0.05$ 、t 検定)。この結果から、シマミミズを用いて蓄積性を評価した場合には、日本のミミズにとって安全側に評価される可能性が示唆された。

しかし、フトミミズは日本の様々な土壌で生息しているため、4 種類の異なる土壌 (水田土壌 3 種類、森林土壌 1 種類) を用いてフトミミズの除草剤曝露蓄積実験を行い、蓄積性を比較した。実験には水田施用除草剤 3 種類 (Butachlor、Mefenacet、Oxadiazon) と畑地施用除草剤 2 種類 (Trifluralin、Pendimethalin) を用いた。このうち、Butachlor、

Mefenacet はいずれの土壌で飼育したミミズでも蓄積が認められなかった。Oxadiazon のミミズでの蓄積は、有機炭素含率がやや高い傾向にある 2 種類の土壌 (2.8%と 6.9%) で見られたことから、Oxadiazon は有機炭素量が高い土壌で蓄積する可能性が示唆された。Pendimethalin と Trifluralin はいずれの土壌で飼育したミミズでも蓄積が認められた。このうち、Pendimethalin の BAF には土壌間で有意な差は見られなかった (分散分析、 $p>0.05$)。Trifluralin の BAF では 1 種類の土壌でやや高かったが、蓄積性は異なる土壌で飼育しても大きく変化しないと考えられた。また、シマミミズの BAF と比較すると、いずれの土壌で飼育した場合でもフトミミズより大きく、Trifluralin では $p<0.05$ で有意な差が見られた (Tukey の HSD 法)。このことから、フトミミズを異なる土壌で飼育した場合でも、除草剤の蓄積性はシマミミズより小さいことが示唆された。

次にシマミミズとフトミミズの Trifluralin、Pendimethalin の取り込み速度と排出速度を求めた。除草剤取り込み期間を 7 日、排出期間を 10 日とし、飼育期間中に取り出してミミズ中の除草剤濃度を分析した結果から求めた Trifluralin、Pendimethalin の取り込み速度定数はシマミミズで 0.20、0.19、フトミミズで 0.11、0.10、排出速度定数はシマミミズで 0.13、0.14、フトミミズで 0.21、0.71 であった。シマミミズは排出速度定数よりも取り込み速度定数が大きく、フトミミズは取り込み速度定数より排出速度定数が大きかった。また、シマミミズの取り込み速度定数はフトミミズのそれよりも大きく、排出速度定数は小さかった。取り込みや排出の速度の視点からも、フトミミズの蓄積性はシマミミズに比べて小さいことが明らかになった。

さらに、シマミミズとフトミミズの Trifluralin、Pendimethalin の蓄積部位を検討した。Trifluralin、Pendimethalin に曝露して 7 日後のミミズを分析時に前部、中部、後部に分けて 1 匹あたりの分布にすると、シマミミズでは後部が高かったが、フトミミズでは前、中、後部でほぼ同じで、特定の部位で蓄積性が大きくなることはなかった。フトミミズの中部にはシマミミズにない腸盲嚢が存在し、消化に関わると言われている。フトミミズでは腸盲嚢が存在する中部であらかじめ除草剤が分解されるため、後部の除草剤濃度は低かったと考えられた。一方、腸盲嚢のないシマミミズでは分解をうけることなく後部まで移動したため、後部の除草剤濃度が高くなったと考えられた。また、生殖器官のある前部での著しい除草剤の蓄積は見られなかった。

以上の結果から、シマミミズを用いて除草剤蓄積性を評価した場合には日本のミミズにとって安全側に評価されること、日本のミミズにおける除草剤蓄積性は小さく、土壌生態系での除草剤の移行のリスクが小さいことが考えられた。しかし、ミミズは土壌生態系のみならず、陸域や水域の生物にとっての餌資源であるため、より詳細な研究が必要である。そのためには、対象とする除草剤やミミズの種類を増やし、日本のミミズでの除草剤蓄積の特性を明らかにすることで、より大きく複雑な食物網での除草剤蓄積のリスクを明らかにすることができると思われる。