

## 日本産珪藻および藍藻を用いた OECD 藻類生長阻害試験法の改良

化学環境部有機化学物質研究グループ 農薬動態評価ユニット 石原 悟

はじめに

現在わが国では、農薬など化学物質の使用に当たってのリスク評価において、水域生態系の一次生産者である藻類に対する影響評価に単細胞の緑藻 *Pseudokirchneriella subcapitata* (旧名 *Selenastrum capricornutum*) (図1-①) が代表的試験生物種として定められている。また、この緑藻 *P. subcapitata* は OECD などにおける藻類生長阻害試験法の推奨種の一つでもある。一方、農薬など化学物質の使用に当たっての水生生物に対するリスク評価において、より実環境を反映した試験および評価法の開発が検討課題となっている。日本の河川では珪藻および藍藻を中心とした付着性藻類が一次生産の主役であり、緑藻 *P. subcapitata* は日本にはほとんど分布していないことなどの理由から、緑藻 *P. subcapitata* を用いた試験結果のみで日本の水域生態系における藻類に対する影響評価を進めることには疑問が残る。そこで、OECD などの推奨試験法を基本に日本産珪藻および藍藻を用いた日本に適した精度の高い評価手法を開発した。

### OECD 推奨試験法に適合する珪藻および藍藻

水系には様々な藻類が生息しているが、試験生物に適した種類、すなわち、人工培地中で安定して培養できる種類は限られている。培養の容易さ、増殖力などを考慮し OECD 推奨試験法に適合する珪藻および藍藻の探索を行ったところ、藍藻の *Merismopedia tenuissima* (NIES-230 株) (図1-③) および珪藻の *Achnanthes minutissima* (NIES-71 株) (図1-④) が供試生物として有用であることを確認した (表1)。

### 水田除草剤の有害性評価

現行の推奨試験法に適合する藍藻の *M. tenuissima* および珪藻 *A. minutissima* と OECD 試験法推奨種である *P. subcapitata* および *Chlorella vulgaris* (図1-②) の計4種類の藻類を用い、現在日本で主に使用されている水田除草剤14種を被検物質として生長阻害試験を行った (図2)。72時間後の生存細胞数に基づく半数生長阻害濃度 (72h-EC<sub>50</sub>: 対照区に比べて細胞数が半数になる暴露濃度) を指標にして、14種の水田

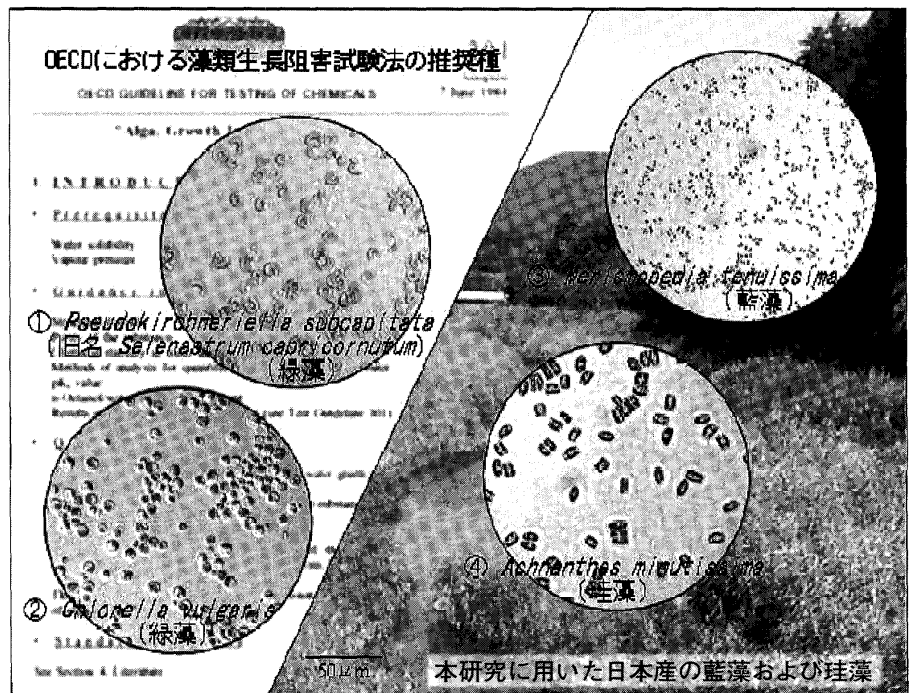
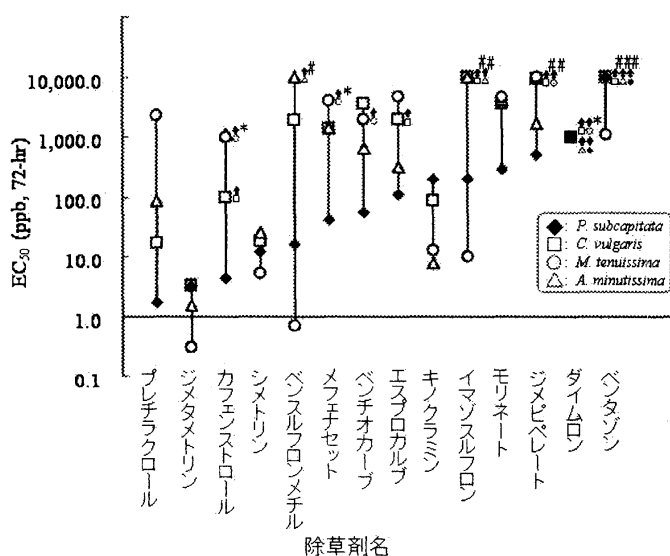


図1 試験生物種

表1 藻類生長阻害試験における試験生物としての適合性

	<i>P. subcapitata</i> <i>C. vulgaris</i> ( <i>P. subcapitata</i> 推奨種)	<i>M. tenuissima</i> (藍藻)	<i>A. minutissima</i> (珪藻)
培養・試験培地	OECD 培地・C培地など	OECD 培地・C培地など (緑藻の飼育培地での培養が可能)	OECD 培地+珪酸ナトリウム C培地+珪酸ナトリウム など (緑藻の飼育培地に珪酸ナトリウムを 加えることにより培養が可能)
固形寒天培地上 での培養*	○	○	○
培養・試験条件	光度 約4000lux 温度 23±2℃	緑藻と同条件で可	緑藻と同条件で可
初期細胞濃度	約1×10 <sup>4</sup> cells/ml	約3×10 <sup>4</sup> cells/ml	約5×10 <sup>3</sup> cells/ml
72時間後の 細胞数	約100~150倍 (C培地・4000 lux・23℃・振とう培養) (試験成立条件は対照区の細胞濃度が 3日以内に16倍以上に増加)	約1000~2000倍 (C培地・4000 lux・23℃・振とう培養)	約30倍 (C培地+珪酸ナトリウム・ 4000 lux・23℃・振とう培養)

\* 固形培地上で培養が可能な種類は、無菌状態での継代培養が容易である。

図2 14種水田除草剤に対する4種藻類の72h-EC<sub>50</sub>の比較

↑: EC<sub>50</sub> がより大 (>) であることを示す  
\*: 水溶解度による暴露濃度の限界  
#: 暴露濃度の上限は10000 (μg/L)

るので入手が容易である。また長期継代培養も容易であり、培養は単細胞緑藻の場合と同様に実施できる。これらのことから現行の緑藻 *P. subcapitata* を用いた試験法に加え、珪藻 *A. minutissima* および藍藻 *M. tenuissima* を追加生物種とすることにより、藻類に対する有害性評価の信頼性を高めることが可能となる。

### おわりに

藻類に対する影響評価を含め、現在、わが国では農薬の生態系全般に対する影響を評価するシステムを確立することが重要な課題となっている。その検討に当たっては、欧米諸国の考え方や採用されている方式を機械的にそのまま導入するのではなく、気候条件、地形条件、生息する生物の違いなど、日本特有の生態系の成立条件を十分踏まえた上で、日本に適した評価システムを確立していく必要がある。

2005年3月

除草剤の藻類に対する有害性を比較すると、感受性が高いとされている緑藻 *P. subcapitata* が必ずしも感受性が最も高い種でないことがわかる。スルホニルウレア系除草剤(ベンスルフロンメチル、イマズスルフロン)およびトリアジン系除草剤(シメトリン、ジメタメトリン)に対する藍藻 *M. tenuissima* の感受性は緑藻 *P. subcapitata* に比べ高く、また、除草剤キノクラミンに対する藍藻 *M. tenuissima* および珪藻 *A. minutissima* の感受性は緑藻 *P. subcapitata* に比べて高い。すなわち緑藻 *P. subcapitata* を代表的生物種とした試験法の場合、これらの除草剤に対する他の藻類の高感受性が見落とされてしまう危険性がある。

珪藻 *A. minutissima* と藍藻 *M. tenuissima* はいずれも日本産であり、保存株化されている。