

農薬はオタマジャクシに影響を与えるのか

国立研究開発法人農業環境技術研究所

大津 和久 (おおつ かずひさ)

はじめに

読者諸兄は最近カエルを見たことがあるだろうか？ 筆者の職場の茨城県つくば市では5～7月の夜、田んぼに行けば今でもカエルの大合唱を聞くことができる。生態学に詳しい読者ならばご存じだろうがカエルは、幼生（オタマジャクシ）が水生昆虫などの、成体（カエル）がヘビ類やサギ等鳥類の主な餌となることから、水田やその周辺の生物の多様性を維持するうえで重要な生き物とされている（図-1）。ところが、近年カエル類の減少が各地で観察されている。筆者の周辺でもニホンアマガエル以外のカエルは衰退が著しい。その原因として圃場整備による用水路のコンクリート化、冬期乾田化等の水

田環境の変化による生息環境の破壊とともに、農薬が関与している可能性も指摘されている。

筆者らは、これまでに種々の昆虫などで農薬による影響を調べてきた。今回その応用として最近の水田で使用される農薬を対象に日本全国に生息し、現在水田やその周辺域で最も普遍的に見られるニホンアマガエルに対する影響を調査してみた。ニホンアマガエル (*Hyla japonica*) は日本全国に生息し、水田やその周辺域で現在最も普遍的に見られるカエルである。水田を主な産卵場所とし、水田で農薬が使用される5～7月に産卵して幼生（オタマジャクシ）の時期を過ごすため、農薬など化学物質の影響を受けることが懸念される。本種幼生に関しては、除草剤のペンタクロロフェノールナトリウム塩

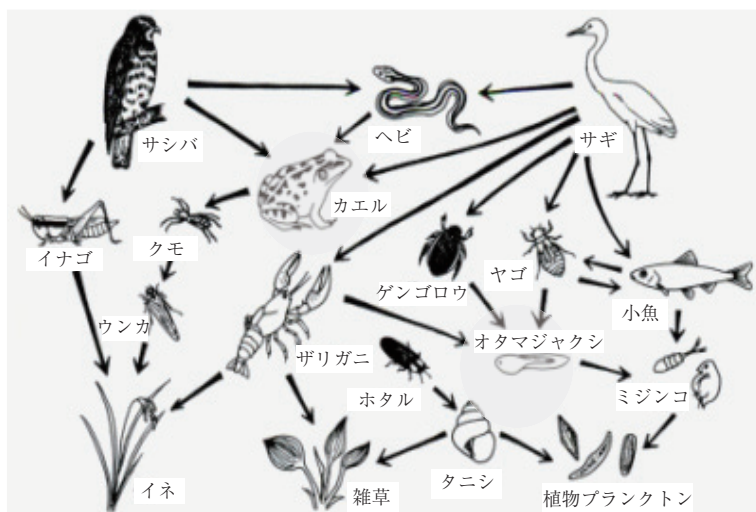


図-1 カエルを取り巻く生物
田んぼの生物の食物連鎖 (吉田保志子原図)
鳥(サギやサシバ)は、様々な生物に支えられている。

(PCP-Na) とベンチオカーブに対する感受性の測定例があるが、PCP-Na は既に登録失効しており、ベンチオカーブは農協推奨除草剤の有効成分に含まれないことが多い。本種幼生が水田で暴露される可能性の高い水稻栽培初期に使用される農薬、特に最近使用が増加している育苗箱施用殺虫剤および近年新規登録された除草剤に関する感受性データはほとんどなかった。そこで、これらの農薬の本種幼生に対する感受性レベルを明らかにし影響評価することを目的に毒性試験を行った。

I 実験材料および方法

1 試験生物

茨城県南部で採集したニホンアマガエル成体を春期(5～7月)に♀1頭♂2頭ずつ水深1～2cmの飼育水を入れた小型プラスチック容器に収容し、26℃、明期13時間に保ち、リング液に溶解したヒトゴナトロピン(LH様生殖腺刺激ホルモン)をシリンジで1匹当たり

♂ 0.1 ml (250 I.U.), ♀ 0.2 ml (500 I.U.) 腹腔内注射し産卵させた。ふ化した幼生は水温 25～26℃ (明期 13 時間) でふ化後 3 日目からクロレラ粉末を給餌し飼育した。初期幼生 (胴長 3～4 mm, ふ化後 3～4 日) および中期幼生 (胴長 8～10 mm, ふ化後 7～10 日) を毒性試験に供した。

2 試験対象薬剤・有効成分

水稻用農薬について、茨城県南部数農協の推奨リストから最近使用量が多いと考えられる殺虫剤含有の育苗箱施用剤 4 製剤 (ネオニコチノイド系のウインアドマイヤー箱粒剤: バイエルクロップサイエンス (株), ウインバリアード箱粒剤: クミアイ化学工業 (株), およびカーバメート系のオンコル粒剤 5: 大塚化学 (株), ガゼット粒剤: 日産化学工業 (株)) および除草剤 7 製剤 (キリフダ 1 キロ粒剤: 八州化学工業 (株), ボス 1 キロ粒剤: 八州化学工業 (株), トップガン GT 1 キロ粒剤 51: クミアイ化学工業 (株), テロス 1 キロ粒剤: クミ

表-1 試験農薬

No.	製剤名	剤型	有効成分 1	有効成分 2	有効成分 3	有効成分 4
ネオニコチノイド系 1	ウインアドマイヤー	箱粒剤	イミダクロプリド 2.0% (A)	カルプロバミド 4.0% (A)		
ネオニコチノイド系 2	ウインバリアード	箱粒剤	チアクロプリド 1.5% (A)	カルプロバミド 4.0% (A)		
カーバメート系 1	オンコル	箱粒剤	ベンフラカルブ 5.0% (BS)			
カーバメート系 2	ガゼット	箱粒剤	カルボスルファン 3.0% (BS)			
除草剤 1	ハヤテ	粒剤 (1 kg)	イマズスルフロ ン 0.3% (A)	ジメタメトリン 0.2% (B)	ダイムロン 5% (A)	プレチラクロー ル 1.5% (B)
除草剤 2	キリフダ	粒剤 (1 kg)	インダノファン 1.5% (B)	ピラゾスルフロ ンエチル 0.3% (A)		
除草剤 3	ボス	粒剤 (1 kg)	インダノファン 1.2% (B)	ピラゾスルフロ ンエチル 0.3% (A)	ベンゾピシク ロン 2.0% (A)	
除草剤 4	トップガン GT	粒剤 (1 kg)	ピリミノバック メチル 0.45% (A)	ベンスルフロ ンメチル 0.51% (A)	プロモプチ ド 9.0% (A)	ペントキサ ゾン 2.0% (B)
除草剤 5	テロス	粒剤 (1 kg)	カフェンスト ロール 2.1% (B)	ベンゾピシク ロン 2.0% (A)		
除草剤 6	スパークスター	粒剤 (1 kg)	エスプロカル ブ 15.0% (B)	ピラゾスルフロ ンエチル 0.3% (A)	プレチラクロー ル 4.5% (B)	ジメタメト リン 0.6% (B)
除草剤 7	トレディプラス	粒剤 (1 kg)	オキサジクロ メホン 0.8% (A)	ピラゾスルフロ ンエチル 0.3% (A)	クロメブロッ プ 3.5% (A)	
除草剤 8	トップガン L フロアブル	フロアブル	ピリミノバック メチル 0.56% (A)	ベンスルフロ ンメチル 0.93% (A)	プロモプチ ド 17.0% (A)	ペントキサ ゾン 2.8% (B)

※有効成分の () 内は、各有効成分の魚毒性。

アイ化学工業(株)、スパークスター1キロ粒剤：日産化学工業(株)、トレディプラス1キロ粒剤：日産化学工業(株)、トップガンLフロアブル：クミアイ化学工業(株)を選び(表-1)、暴露試験に供した(注：ウィンバリアード箱粒剤はH25年度に登録失効した)。

供試した製剤のうち、キリフダ1キロ粒剤、ボス1キロ粒剤、スパークスター1キロ粒剤については、各々の有効成分であるインダノファン、ピラゾスルフロエチル、ベンゾピシクロンおよびその加水分解体、エスプロカルブ、プレチラクロール、ジメタメトリンを同様に供試した。

3 毒性試験

育苗箱施用殺虫剤および除草剤の各製剤は飼育水に所要量を懸濁して試験水とした。除草剤の各有効成分はアセトン溶液(濃度1mg/ml)を原液とし、飼育水に原液を所要量添加、攪拌して試験水とした。なお、ベンゾピシクロンは水溶解度が0.052mg/lと低いため、1%アセトン溶液で試験した。初期幼生は100ml容ビーカーに試験水50mlを入れ、10個体を投入したものを1濃度試験区とした。中期幼生は100ml容ビーカーに試験水50mlを入れ、5個体を投入したものを2個(合計10個体)を1濃度試験区とした。各容器を26℃、明期13時間で静置した。1日1回(24時間毎)状態を観察し、ピンセット刺激時に無反応な個体を死亡個体と判定、これを除去して生存個体を計数し、試験水を更新した。試験中は給餌しなかった。試験はコントロール区の生存率90%以上を確保できる限界の4日(96時間)後まで行った。予備試験でおおよその感受性を調べた後、本試験で半数致死濃度付近の3～5段階の濃度を設定して試験し死亡率を求めた。各濃度試験区の死亡率からプロビット法により半数致死濃度(LC₅₀)を算出した。

4 数理モデルによる有効成分の田面水中濃度の推定

毒性試験で比較的高感受性を示した除草剤3製剤(有効成分6種類)を対象とし、水田における農薬動態予測モデル(PADDY)を用いて各有効成分の田面水中濃度を計算した。PADDYモデルは、水田圃場に関する条件(水収支、土壌の特性等)および農薬の物理化学性(水溶解度、土壌吸着性、分解性等)を用いて、田面水および土壌中の農薬濃度を計算するモデルであり、これまでに主要な代謝分解物を含む数種の水稲用除草剤について、モデル計算の有効性が確認されている。本研究のモデル計算において、水田圃場の水収支は一般的な水管理を想定し、田面水深を5cm、水田排水量を0.5cm/day、降下浸透量を1cm/dayとした。なお、水稲用除草剤は、散布後に落水や掛け流しを行わないとする止水期間が7

日に定められていることから、散布後7日間は水田排水がない条件で計算した。また、土壌の特性は、我が国の水田に占める面積が最も大きい灰色低地土を想定した。これらの設定値および対象農薬の物理化学性データと前述の水田圃場条件を入力データとし、PADDYモデルにより各農薬の田面水中濃度を計算した。なお、ベンゾピシクロンについては、主要な代謝分解物である加水分解体の濃度も計算した。

II 実験結果

1 アマガエル幼生の各種農薬製剤およびその有効成分に対する感受性

供試製剤のうち育苗箱施用殺虫剤については、各剤とも製剤濃度200mg/lで初期および中期幼生の死亡は観察されなかった。除草剤については、小型幼生においてキリフダ1キロ粒剤、ボス1キロ粒剤およびスパークスター1キロ粒剤の3剤に対して比較的高感受性(LC₅₀:10～30mg/l:製剤濃度)で、他の4剤は比較的低感受

表-2 ニホンアマガエル幼生のLC₅₀値

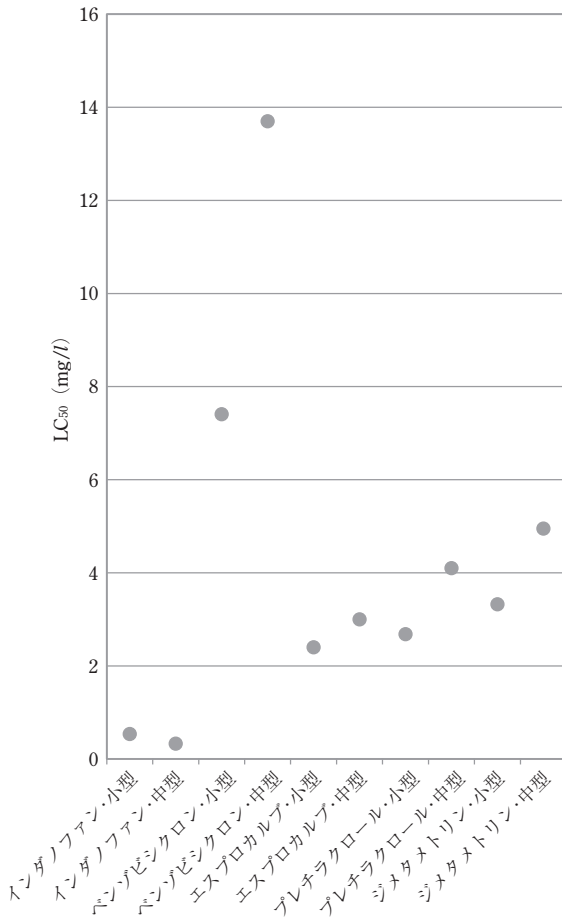
製剤名	小型オタマ (胴長3～4mm)	中型オタマ (胴長8～10mm)
	LC ₅₀ (mg/l)	LC ₅₀ (mg/l)
ウィン-アドマイヤー 箱粒剤	≧200	≧200
ウィンバリアード 箱粒剤	≧200	≧200
オンコル 箱粒剤	≧200	≧200
ガゼット 箱粒剤	≧200	≧200
キリフダ 1キロ粒剤	30	12
ボス 1キロ粒剤	25	16
トップガンGT 1キロ粒剤	159	
テロス 1キロ粒剤	119	
スパークスター 1キロ粒剤	10	16
トレディプラス 1キロ粒剤	≧200	
トップガンL- フロアブル	127	

性 (LC₅₀: 100-≥ 200 mg/l: 製剤濃度) だった。小型幼生で感受性の高かった3剤で中型幼生の試験を行ったところ、感受性は小型幼生とほぼ同レベルながらキリフダ

1キロ粒剤およびボス1キロ粒剤は中型幼生の方が高感受性の傾向にあり、スパークスター1キロ粒剤は小型幼生のほうがわずかながら高感受性だった(表-2)。小型および中型幼生に対して製剤で感受性の高かった除草剤3剤の有効成分のうち、キリフダ1キロ粒剤ならびにボス1キロ粒剤の有効成分ではインダノファンが、スパークスター1キロ粒剤の有効成分ではエスプロカルブ、プレチラクロールおよびジメタメトリンが比較的高感受性(LC₅₀: 0.3~5 mg/l: 有効成分濃度) だった。中型幼生の感受性は小型幼生とほぼ同レベルながら、インダノファンでは中型幼生が高感受性の傾向であり、他の成分では小型幼生が高感受性の傾向だった(図-2)。

2 有効成分の田面水中濃度の計算結果

除草剤3製剤の各有効成分について、PADDYモデルによる田面水中濃度の計算結果を図-2に示す。各有効成分の濃度は散布直後急激に上昇し、ベンゾピシクロンおよびその加水分解体を除き、1日以内に最高濃度に達した後、速やかに減衰するものと推定された。ベンゾピシクロンは散布2日後に最高濃度を示したが、これはベンゾピシクロンの水溶解度が0.052 mg/lと他の農薬に比べて低いと推察された。また、ベンゾピシクロンの減衰に伴い、ベンゾピシクロン加水分解体の濃度が上昇し、散布3日後に最高濃度を示した。エスプロカルブおよびジメタメトリンの水中小および土壌中での半減期は、他の除草剤に比べて長いが、田面水中濃度の減衰は速やかであった(図-3)。これは、両除草剤の土壌吸着定数Kocが大きく、田面水中に溶出した有効成分が速やかに土壌表面へ吸着するためと推察された。各有効成分の最高濃度は、インダノファン0.26 mg/l、ピラゾスルフロンエチル0.05 mg/l、ベンゾピシクロン0.01 mg/l、ベンゾピシクロン加水分解体0.02 mg/l、エスプロカルブ0.47 mg/l、ジメタメトリン0.02 mg/l、プレチラクロール0.24



※ピラゾスルフロンエチルは LC₅₀: 10 mg/l 以上。

図-2 小型・中型アマガエル幼生の除草剤有効成分の LC₅₀ 値

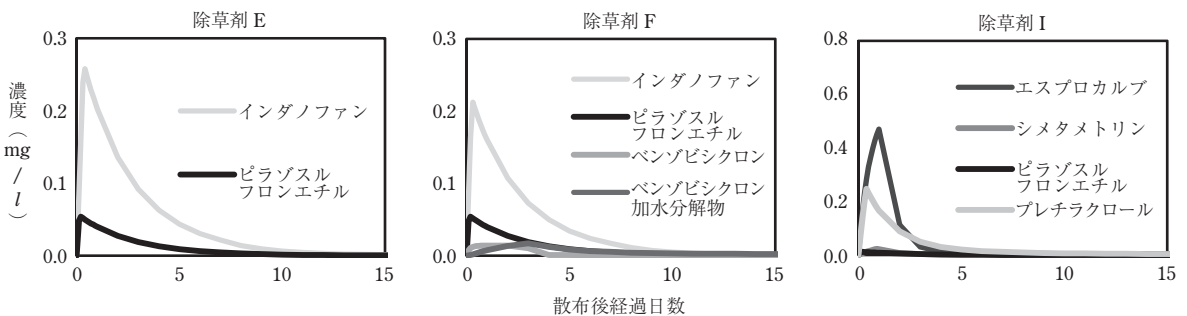


図-3 数理モデル PADDY による3種除草剤製剤有効成分の田面水中濃度の推定
E: キリフダ粒剤, F: ボス粒剤, I: スパークスター粒剤

mg/l と推定された。

III 考 察

水稲用農薬のアマガエル幼生への影響を評価する際には、各農薬有効成分の幼生に対する毒性と田面水中濃度が問題となる。実際の田面水濃度はシミュレーションの結果からも明らかなように、散布後数時間から数日後に最高濃度となった後は速やかに減衰する。今回の毒性試験では、LC₅₀ 値は一定濃度で 96 時間暴露して得られた値であり、この値を暴露濃度の最大値と比較した場合リスクを厳しめに見積もることとなる。

製剤を用いた毒性試験では、育苗箱施用殺虫剤 4 製剤（ウィンアドマイヤー箱粒剤、ウィンバリヤード箱粒剤、オンコル粒剤 5、ガゼット粒剤）および除草剤 4 製剤（トップガン GT 1 キロ粒剤 51、テロス 1 キロ粒剤、トレディプラス 1 キロ粒剤、トップガン L フロアブル）の LC₅₀ 値は 100 mg/l 以上であり、これらの薬剤がアマガエル幼生に影響を与える可能性は低い。一方、キリフダ 1 キロ粒剤、ボス 1 キロ粒剤、スパークスター 1 キロ粒剤の除草剤 3 製剤では、LC₅₀ 値が 10 ~ 30 mg/l と比較的高感受性であった。

これら 3 製剤の毒性についてどの有効成分が毒性に寄与しているかを検討した。複数薬剤の複合影響を評価する方法としては同じような毒性機構が仮定された Concentration addition (CA) と、独立した影響を仮定する Independent action (IA) の二つのモデルがあるが、今回は CA モデルを適用して計算した。毒性機構が同一と想定できる場合、下式により複数の有効成分による LC₅₀ 値から混合剤（製剤）の LC₅₀ 値を推定することができる。

$$LC_{xmix} = \left(\sum_{i=1}^n \frac{pi}{LC_{xi}} \right)^{-1}$$

LC_{xmix} : 混合物（製剤）の LC_x 計算値

LC_{xi} : 成分 *i* の LC_x 値

pi : LC_x 時の成分 *i* 濃度 *ci* と混合剤濃度 *c_{mix}* の比 (*ci/c_{mix}*)

なお、ピラゾスルフロンエチルは低感受性かつ含有量が少なく、製剤の毒性にほとんど寄与しないと仮定し、評価対象から外した。

上式に各有効成分の小型幼生に対する LC₅₀ 値をあてはめ、混合剤（製剤）としての LC₅₀ 値を試算した結果、キリフダ 1 キロ粒剤では計算製剤 LC₅₀ 値 33 mg/l で実測製剤 LC₅₀ 値 30 mg/l とよく一致し、インダノファンの毒性のみではほぼ説明できる。ボス 1 キロ粒剤では計算製剤 LC₅₀ 値 37 mg/l で実測製剤 LC₅₀ 値 25 mg/l と若干のずれがあるが、インダノファンのみ、あるいはベンズピシクロンのみ含有と仮定した場合の計算製剤 LC₅₀ 値は各々 42 mg/l および 370 mg/l となり、インダノファンが主に毒性に寄与していると考えられる。スパークスター 1 キロ粒剤では計算製剤 LC₅₀ 値 12 mg/l で実測製剤 LC₅₀ 値 10 mg/l とよく一致した。エスプロカルブ、プレチラクロール、ジメタメトリンがそれぞれ単独で含有すると仮定した場合の計算製剤 LC₅₀ 値は、各々 16 mg/l, 60 mg/l, 550 mg/l となり、エスプロカルブの寄与が大きいものの、プレチラクロールもある程度毒性に寄与していると考えられる。

お わ り に

今回の結果からは、複数の成分による複合的影響についてこれ以上の考察はできないが、カエル類の減少と複数の農薬有効成分による複合的影響の関連を示唆する報告がある。また、今回行ったのは基本的な毒性試験であり行動や変態への影響等は調査していない。今後これらの点についても検証が必要であろう。カエルの減少要因としては、先ほども述べたように圃場整備による生息地の破壊や耕作放棄等農薬以外の要因が指摘されており、カエルの保全を図るためには、これらの水田およびその周辺の水辺環境の変化がカエルに与える影響を総合的に評価する必要がある。本稿の詳細は参考文献¹⁾に掲載されているので興味のある方は参照されたい。

参 考 文 献

- 1) 大津和久ら (2013): 環境毒性学会誌 16 (2) : 69 ~ 78.