

# 平成28年度 博士論文

ドジョウを指標とした水稲用農薬の生態毒性評価法の開発

宮城大学大学院  
食産業学研究科

21456004  
宮井 克弥

# ドジョウを指標とした水稲用農薬の生態毒性評価法の開発

宮井 克弥

— 目 次 —

第1章	序論	1
第1節	水田生態系の保全に向けた栽培管理の必要性	1
1.1	水田が有する多面的機能と生態系サービス	2
1.2	水田生態系が支える生物	2
1.3	国外における水田生態系の生物多様性の保全の取り組み	3
1.4	国内における水田生態系の生物多様性の保全の取り組み	4
第2節	標的外生物に対する農薬の生態毒性評価と導入	6
2.1	農薬の生態毒性評価の必要性	6
2.2	国外・国内における生物応答を用いた生態毒性評価・管理手法の導入	7
2.2.1	国外の動向	7
2.2.2	国内の動向	8
2.3	魚類を用いた生態毒性評価に関する知見	9
2.4	リスクアセスメントを介した農薬の生態毒性評価に関する知見	10
第3節	本研究の目的と構成	10
3.1	研究の目的	10
3.2	研究対象種	11
3.3	研究の構成	13
第2章	水田において越冬するドジョウの分布の把握	15
第1節	本章の目的および研究における位置	15
第2節	春季において水田内に生息するドジョウの越冬個体の把握	16
2.1	調査概要	16
2.1.1	調査地の選定	16
2.1.2	越冬個体の生息調査	17
2.2	調査の結果	17
2.2.1	越冬個体の生息状況	17
2.3	考察	19
2.3.1	水田内における越冬個体の分布状況	19
2.3.2	水入れ時期に水田内に存在するドジョウの体長分布の把握	19
2.4	小括	23
第3章	マイクロコスム (microcosm)、マクロコスム (macrocosm) 試験系の設計と試験	24
第1節	本章の目的および研究における位置	24
第2節	小型ライシメータを用いたマイクロコスム試験	26
2.1	研究の課題	26
2.2	研究方法	26
2.2.1	試験系の作成	26

2.2.2	水温計測	28
2.2.3	供試魚の選定	28
2.2.4	薬剤の選定	29
2.2.5	ドジョウの採捕方法	32
2.2.6	給餌と餌の有効性の検討	32
2.2.7	評価方法	33
2.3	試験の結果	33
2.3.1	ブラインシュリンプのドジョウの餌としての有効性	33
2.3.2	水温動態	35
2.3.3	農薬濃度動態	35
2.3.4	致死率	35
2.3.5	肥満度	38
2.3.6	生殖腺指数	40
2.4	考察	40
2.4.1	育苗箱施用殺虫剤4剤の致死性	40
2.4.2	生殖腺未発達の要因	43
2.4.3	給餌と肥満度	43
第3節	実験圃場におけるマクロコスム試験	44
3.1	研究の課題	44
3.2	研究方法	44
3.2.1	試験系の作成	44
3.2.2	水温計測	44
3.2.3	供試魚の選定	47
3.2.4	薬剤の選定	47
3.2.5	ドジョウの採捕方法	47
3.2.6	試験系における給餌環境の工夫	49
3.2.7	評価方法	49
3.3	結果	49
3.3.1	水温動態	49
3.3.2	農薬濃度動態	49
3.3.3	斃死	52
3.3.4	肥満度	52
3.3.5	生殖腺指数	52
3.4	考察	55
3.4.1	育苗箱施用殺虫剤2剤の農薬濃度動態とドジョウへの致死性	55
3.4.2	給餌と肥満度	55
3.4.3	生殖腺発達の要因	55
3.5	小括	56

第4章	亜致死影響の評価と評価手法の検討	57
第1節	本章の目的および研究における位置	57
第2節	円形水槽を用いた生態毒性評価試験	57
2.1	研究の課題	57
2.2	研究の方法	58
2.2.1	96時間観察試験	58
2.2.2	96時間急性毒性試験	58
2.2.3	遊泳試験	58
2.2.4	水槽内の流速分布	60
2.3	供試魚の選定	60
2.4	亜致死影響の定義	60
2.4.1	屈曲	60
2.4.2	痙攣・テタニー	60
2.4.3	平衡感覚の喪失	61
2.4.4	遊泳能力と遊泳阻害	61
2.3	結果	61
2.4	考察	63
2.5	小括	65
第4節	メソコスム (mesocosm) 試験を用いたドジョウと水生生物群集への同時影響評価	67
4.1	研究の課題	67
4.2	研究方法	68
4.2.1	試験系の作成	68
4.2.2	供試魚の選定	68
4.2.3	薬剤と曝露濃度の選定・農薬濃度の動態分析	68
4.2.4	ドジョウ調査	71
4.2.5	水生生物調査	71
4.2.6	試験系の管理	72
4.2.7	評価方法	72
4.3	結果	73
4.3.1	農薬濃度動態	73
4.3.2	斃死	74
4.3.3	肥満度	74
4.3.4	生殖腺指数	78
4.3.5	水生生物への影響評価	78
4.4	考察	80
4.4.1	ドジョウに対する育苗箱施用殺虫剤2剤による致死性	80
4.4.2	肥満度	85
4.4.3	生殖腺発達の要因	85
4.4.4	水生生物への影響評価	86

4.5	小括	88
第5章	管理者による実践を通じた適正な毒性試験の開発	89
第1節	現行の農薬登録基準と生態毒性評価の必要性	89
第2節	本章の目的	91
第3節	農業者を主体としたリスクアセスメントミティゲーションプログラムの実践と効果	92
3.1	はじめに	92
3.2	材料と方法	93
3.2.1	RAMPの概要	93
3.2.2	RAMPの活動主体と連携組織	93
3.2.3	対象生物のモニタリング調査	93
3.2.4	栽培管理の記録	95
3.2.5	食害被害	95
3.3	結果	96
3.3.1	対象生物の保全効果	96
3.3.2	額縁処理と害虫防除効果	99
3.4	考察	102
3.4.1	RAMP1 低リスク殺虫剤選択の効果	102
3.4.2	RAMP2 育苗箱施用殺虫剤の額縁処理の効果	103
3.5	まとめ	104
第4節	今後の課題	104
4.1	ドジョウの保全に資する育苗箱施用殺虫剤の選定・施用方法	104
4.2	ドジョウの保全を目的としたRAMPに向けて	108
4.3	今後の展望	109
	摘要	110
	謝辞	112
	本研究の関連査読論文および発表論文	113

**【引用文献】**

<b>【付録】</b>	メソコスム試験	水生生物調査	同定記録一覧表
	メソコスム試験	水生生物調査	確認生物一覧

# 第 1 章 序論

## 第 1 節 水田生態系の保全に向けた栽培管理の必要性

### 1.1 水田が有する多面的機能と生態系サービス

コメは、世界で最も重要な穀物として位置付けられており、食料供給による飢餓の回避だけでなく米国農務省（United States Department of Agriculture, USDA）（2016<sup>1-1</sup>）によると、現在の全世界における作付面積は 162 百万ヘクタールであり、生産量は 4 億 8326 万トン（2016/17, 精米ベース）におよぶ。世界人口は 2011 年に 70 億人を超えており、今後 2050 年までには世界人口は 90 億人に達し、世界的な食糧不足が懸念されている（Bloom, 2011<sup>1-2</sup>）。世界で初めて行われた生態系に関する大規模な総合的評価であるミレニアム生態系評価（Millennium Ecosystem Assessment, MA）において、その未来シナリオとして、2020 年までには約 40 億人の主食として利用されると見積もられている（Finlayson et al., 2005<sup>1-3</sup>）。

我が国においては水稲栽培が主流であり、農林水産省（2016a<sup>1-4</sup>, 2016b<sup>1-5</sup>）によると、その作付面積は、2015 年産では主食用として 140 万ヘクタールであり、生産量は 744 万 2 千トンである。

水稲栽培の歴史は約 1 万年前に遡り、中国の長江流域を起源として世界各地へと伝播されてきた。現在では、南極を除く全ての大陸において、約 100 ヶ国以上でイネ（*Oryza sativa* L., *Oryza glaberrima* Steud.）が栽培されており、そのうち全世界の水稲栽培面積のうち 88% を占めている地域がアジア地域である（FAOSTAT, 2016<sup>1-6</sup>）。我が国を含めたアジア・モンスーン地域においては、高い降水量と栄養塩と肥沃な土壌により、継続的に水田が利用されて、人間はこれらの恩恵を享受してきた。その結果、水田は長年に渡り、アジア地域に代表される景観として特徴づけられてきた（Greenland, 1997<sup>1-7</sup>）。

生態系サービス（Ecosystem services）とは、生物の生活環境を表す生態系から人間が享受する恩恵（サービス）の総称である。この概念を整理し、その用語を世界的に普及させたものが、2005 年に発表された MA である（西田, 2013<sup>1-8</sup>）。生態系サービスは次の四つに分類されており、「供給サービス(Provision Services)」、「調整サービス(Regulating Services)」、「文化的サービス(Cultural Services)」および「基盤サービス(Support Services)」がある。供給サービスとは、生態系から得られる生産物であり、人間生活において物質的な側面を支えている。これには食料、淡水、木材・繊維、燃料などが含まれる。調整サービスは、人間の生活環境を快適かつ安定に調節する役割である。例として、気候調節や洪水抑制、疫病抑制、水の浄化が含まれる。文化的サービスは、人間の心に与える影響や余暇活動などを豊かにする役割である。主には、精神的、教育的、レクリエーショ

ンが該当する。基盤サービスは、栄養塩の循環や土壌形成、一次生産などを含み、他の生態系サービスの基盤として重要な役割を果たすものの、人間へ直接的に影響を与えることが少ないため体感することができない。

水田が有する食糧生産以外の多面的機能は、外部経済 (external economy) として扱うのが適していると考えられる (西田, 2013<sup>1-8</sup>)。つまり、水田の多面的機能とは、水田の生態系サービスのうちの供給サービス以外のサービスに該当することになる。我が国における水田の多面的機能については、既に報告されており (日本学術会議, 2001<sup>1-9</sup>)、これらを生態系サービスに置き換えると、洪水防止機能や地下水涵養機能や気候緩和機能などは調整サービス、保健休養やレクリエーション機能などの文化的サービスに該当する。これらの機能の重要性については、近年、我が国において農業の多面的機能として、経済価値として再認識されるようになってきた。

## 1.2 水田生態系が支える生物相

水田は、河川氾濫源に形成された後背湿地などの一時的水域を利用する生物に生息場を提供する人工湿地と捉えることができる。水田生態系は、水田および水田周辺における生物の生活環境である生態系のことを指す。2010年にラムサール条約第10回締約国会議において水田決議が採択されて、水田生態系には、爬虫類、両生類、魚類、甲殻類、昆虫類や哺乳類の生態系を支え (Fernando et al., 1979<sup>1-10</sup>; Miller, 1989<sup>1-11</sup>; Brouder & Hill, 1995<sup>1-12</sup>; Elphick & Oring, 1998<sup>1-13</sup>; 2002<sup>1-14</sup>)、飛来する鳥類の個体群の保全上においても重要な役割を果たしており (Elphick & Oring, 2002<sup>1-14</sup>; Czech & Parsons, 2002<sup>1-15</sup>; Bambaradeniya & Amerasinghe<sup>1-16</sup>)、世界的にも生物多様性の価値を有していることが知られている。

一般に、魚類や両生類などの水生脊椎動物は、水田をはじめとする水田周辺の水域 (水路や近接する沼・池) から水田へと侵入し、豊富な餌と外敵の少なさから水田を繁殖の場として利用する。一方で、爬虫類や哺乳類、鳥類などの陸生脊椎動物は水田周辺の生息地から水田へ訪れるため、一時的な採餌の場として扱われる。

淡水魚類は、海水魚類と比較し、分布域が局限されるため、水資源量に対する生息種数は約2000倍と多い (Nelson, 2006<sup>1-17</sup>)。アジア地域においては、水田で水稻栽培と並行して水田養魚を行っている (Burhanuddin, 1993<sup>1-18</sup>; Halwart & Gupta, 2004<sup>1-19</sup>)。特にナイルティラピア (*Oreochromis niloticus*) はアジア地域で広く養殖されている。また、各国の主な水田養魚種としては、タイではシルバーバーブ (*Puntius gonionotus*) やコイ (*Cyprinus carpio*) (Little et al., 1996<sup>1-20</sup>)、インドネシアにおいては、キッシンググラミー (*Helostoma temmincki*) やハードリップバルブ (*Osteochilus hasseltii*) 等の我が国においては観賞魚である種が食用として養殖されている (Ardiwinata, 1957<sup>1-21</sup>)。また、これとは他に、別の養殖形態として、水田周辺に養殖池を設置する方法がある。こ



ちらも東南アジアに多く見られる養魚方法である。これらの水田および水田周辺の養魚導入により、生態系サービスとして、雑草や蚊（マラリア）の抑制にも貢献させるという報告もある（Coche, 1967<sup>1-22</sup>）。以上により、水田生態系は、食糧生産の場であり、半自然環境（semi-natural environment）であるとともに水田生態系からの生態系サービスも水田が有する多面的機能の1つとして重要である。

生物多様性の問題は、世界各地の生物多様性（遺伝子・種・生態系の各レベルにおける多様性）が、人間の経済活動に伴う土地の改変や気候変動による環境の変化、野生動植物の過剰捕獲などにより劣化するという問題である。生物多様性の劣化が、食料や遺伝資源の供給減少やレクリエーション価値の低下など、生物多様性によってもたらされる便益の低下を通じて人間社会に悪影響を及ぼすことが知られている。1992年ブラジルで開催された国連環境開発会議においては、生物多様性における問題対応のために生物多様性条約(Convention on Biological Diversity, CBD)が採択され、翌年の1993年に発効した。このことにより、生物多様性の保全には、国境はなく、世界全体で取り組むことが重要となった。

### 1.3 国外における水田生態系の生物多様性の保全の取り組み

水田生態系は、世界中において、様々な人為的脅威にさらされており、主に機械化や化学物質の使用、水田周辺の永続的水域の消失が指摘されている（Malmqvist & Rundle, 2002<sup>1-23</sup>）。これら要因を解決し、生物の保全に役立てる取り組みが世界各地で行われている。ここでは、国外の水田における希少種の取り組みを挙げる。

まずは、国レベルとして米国を挙げる。米国の農業環境政策の近年の特徴としては、「生産しないこと」に対する支援から、「生産すること」に対する支援へと変化している点である。農地の休耕に関する事業は Conservation Reserve Program (CRP) と呼ばれ、休耕によって「生産しないこと」により、土壌侵食や地下水の保持に役立てる。一方で、Environmental Quality Incentives Program (EQIP)、Conservation Stewardship Program (CSP) は、営農を継続しながら行う環境保全措置に関する事業であり、これが「生産すること」に該当する。地域レベルの取り組みとしては、1つ目として、ルイジアナ州におけるザリガニを通じた水田環境の保全である。ルイジアナ州の水田には、州・連邦が絶滅危惧に指定するハクトウワシ (*Haliaeetus leucocephalus*) やハヤブサ (*Falco peregrinus*)、カナダヅル (*grus canadensis tabida*) 等の鳥類が飛来することが知られている（Coreil, 1993<sup>1-24</sup>; Brouder & Hill, 1995<sup>1-12</sup>）。加えて、ルイジアナ州ではザリガニ (*Procambarus clarkii*) の養殖が有名であり、米国唯一の商業規模とする州としても知られている。FAO (2013<sup>1-25</sup>) によると、ルイジアナ州の養殖面積は約 48,000ha におよび、米国におけるザリガニの総生産量の 90~95% を占めている。そのような中、農業者は、水田で養殖しているザリガニが地域の生態系の一部である水鳥等に捕食されるこ

とを許容しザリガニを通じて生物多様性の保全へ役立てている。水稲栽培 (*Oryza sativa* L.) を行うなか、ザリガニを水田や養殖池に粗放流する。ザリガニの養殖にとって、水鳥は捕食者である。しかし、生産効率性よりも生物多様性の維持に重点が置かれている。このような水田や養殖池など湿地として扱い、このような生物多様性に貢献する湿地を「Working Wetland (働く湿地)」と呼ぶ (環境省自然環境局, 2010<sup>1-24</sup>)。水田の持続的利用と生物多様性の維持のため、水稲栽培とザリガニの養殖、鳥類の生息場所の提供などの複数の機能を備え持った水田の取り組みである。

同じく米国のカルフォルニア州のセントラルバレーでは、かつて 1,600,000ha 以上の湿地が存在していたが、現在では農業を含む人為的利用により 95%以上が転用されて、湿地面積は 80,000ha となった (Brouder & Hill, 1995<sup>1-12</sup>)。カルフォルニア州においても、ルイジアナ州同様に水田でザリガニ養殖が行われており、いずれの地域も水稲用農薬を使用する際は、ザリガニに対して致死性の低い薬剤が選定されている (Stout et al., 2011<sup>1-27</sup>; Brady, 2013<sup>1-28</sup>)。また、冬期に飛来する太平洋沿岸の渡り鳥の生息地の利用させるために、稲の収穫後の 10 月以降は水田を湛水させる冬期湛水水田を導入している (Brady, 2013<sup>1-28</sup>)。一方で、飛来する鳥類による稲の食害被害を低減させる工夫としては、早熟性品種を導入して、水田に飛来する前に収穫する (Brouder & Hill, 1995<sup>1-12</sup>)。

アジア地域では、中国の陝西省における取り組みとして、絶滅危惧種であるトキ (*Nipponia nippon*) の保全活動を挙げる。Sun ら (2014<sup>1-29</sup>) や Hu ら (2016<sup>1-30</sup>) は、冬期湛水を導入した水田地域におけるトキの分布数の多さから、トキに対して湿地代替効果が有効と捉え、生息地域においては、農業者に対して冬期湛水水田の導入と普及を勧めている。

#### 1.4 国内における水田生態系の生物多様性の保全の取り組み

我が国における水田における希少種の保全に関わる取り組みを挙げる。水田生態系の危機要因の一つとされる化学物質の使用に関して (詳しくは「2.2.2 国内の動向」で述べる)、まずは、国レベルでの取り組み (推進政策) として以下が挙げられる。我が国では、2009 年に有機 JAS 規格 (正式名称: 農林物資の規格化等に関する法律) が施行されて、2014 年には「有機農法の推進に関する基本的な方針」を定めた。ここでは有機農法とは、有機肥料で土作りを行い、種まきまたは植え付けの前 2 年以上、禁止された農薬や化学肥料を使用しない農法のことを指し、全国レベルでの有機農法の普及を目指している (農林水産省, 2014<sup>1-31</sup>)。そして 2011 年には、「環境保全型農業直接支援対策」の実施を開始した。農林水産省では、環境保全型農業を「農業の持つ物質循環機能を生かし、生産性との調和などに留意しつつ、土づくりなどを通じて化学肥料、農薬の使用などによる環境負荷の軽減に配慮した持続的な農業」と定義している (農林水産省, 1992<sup>1-32</sup>)。本対策により、有機農法や冬期湛水など生物多様性保全に効果の高いと考えられる営農活

動に取り組む農業者に対する支援が行われるようになった。一方で、これらの国レベルの取り組みに加えて、地域レベルでの取り組みがある。

新潟県佐渡市においては、環境保全型農業を通じたトキの保護活動が挙げられる。トキは2003年に国内産の「キン」が死亡し、以降は1999年に中国から譲り受けた個体を繁殖させている。佐渡島では、「朱鷺と暮らす郷づくり認証制度」に代表される、地域レベルでの環境保全型農業の取り組みも増えつつある。これは、トキの餌生物を中心とした水田の生物の個体数や種数の回復を目標とした認証制度であり、この制度には、以下の三つの認証要件として、(1) 農薬と化学肥料の使用量を慣行農法の5割以下に削減する、(2) 年2回の生きもの調査を行う、(3) 「生きものを育む農法」のうちからいずれかを実施する、である。「生きものを育む農法」は、冬期湛水の実施、水田内の「江」(通年湛水状態の堀込み)の設置、水田魚道の設置やビオトープ(休耕田の湛水管理を行うもの)の設置、である。また、各研究機関との研究を通じ、取り組みの効果を検証している点も特徴的である(宇留間ら, 2012<sup>1-33</sup>; Natuhara, 2013<sup>1-34</sup>)。

兵庫県豊岡市ではコウノトリの野生復帰が取り組まれており、2003年から「コウノトリ育む農法」が実践されている。その農法としては、以下のとおりであり、(1) 冬期湛水、早期湛水、深水管理、中干し延期、(2) 堆肥・土作り資材の使用、温湯消毒、農薬に頼らない抑草技術、減農薬においても魚毒性の低いものを使用、(3) 水田魚道の設置、生き物の逃げ場の設置、畦草の管理の徹底、がある。菊地(2012<sup>1-35</sup>)によると、コウノトリの野生復帰が農業の中に取り込まれ、生物多様性に寄与することで生産物に高付加価値がつき、このサイクルの形成によって、野生復帰と農業の両立を実現しようとしている。

滋賀県の琵琶湖周辺においては、伝統食品である鮎寿司の原料のニゴロブナ(*Carassius auratus grandoculis*)を含む魚類の保全対象としている。滋賀県では、琵琶湖と水田を産卵のために往復する魚類の保護のため、「魚のゆりかご水田プロジェクト」がある。この取り組みは、魚類の移動確保のために、排水路に水田魚道、排水路堰上施設(水位を堰上げる施設)の設置や栽培管理の指定などが行われている。ただし、滋賀県(2016<sup>1-36</sup>)によると2015年に保全対策を導入している水田は約127ha程であり、滋賀県全体の水田面積のわずか0.1%程に留まる。そのため、実施水田面積の拡大に対する方策が必要とされる(中西・井手, 2014<sup>1-37</sup>)。

国外、内問わず、地域を象徴する大型鳥類が保全対象として選定されている。このことについては、Small(2011<sup>1-38</sup>, 2012<sup>1-39</sup>)が美しい有用な生物種が保護の対象になりやすいと指摘しており、また、西田(2013<sup>1-8</sup>)は、再導入や保護のための予算確保に合意が得られやすいと述べている。つまり、絶滅に瀕している動植物種のすべてが保護対象になるわけではなく、有用な生物種が優先的に保護対象となり、一方では、現時点では有用性が少ないと見積もられて保護対象にならない種も存在する可能性がある。

## 第2節 標的外生物に対する農薬の生態毒性評価と導入

### 2.1 農薬の生態毒性評価の必要性

現代社会において、農薬は農作物の安定的な生産性を確保、農作業の省力化や収量増産に多大な貢献してきた。しかし、その一方で、農薬使用による環境負荷が懸念されている。

汚染物質およびストレス要因の源は、一般的に点源と非点源に分類される。水系における点源汚染源 (point source) は、一つの地点、つまり、汚染源が容易に特定されて、サンプリングが可能な「点」から発生する汚染を指す。点源の例として、工場など特定の場所から汚染物質が排出された場合が挙げられる。一方で、非点源汚染源 (non-point source) とは、汚染源が広く拡散しており、直接サンプルの採取や評価をされることは少ない (e.g. 都市および農業の流出水、雪解け水)。農業で使用される農薬は、水田生態系における危機要因の一つとされており (Malmqvist & Rundle, 2002<sup>1-23</sup>)、水稻用殺虫剤による汚染の報告だけでも、ヨーロッパ (Papadopoulou-Mourkidou et al., 2004a<sup>1-40</sup>; 2004b<sup>1-41</sup>) や日本 (Sudo et al., 2002<sup>1-42</sup>)、中国 (Teng et al., 2013<sup>1-43</sup>) やベトナム (Lamers, 2011<sup>1-44</sup>) などの世界各地にあり、水田が非点源汚染源となる。

生態系は、捕食者と被捕食者に代表される多種多様な生物の相互関係から成り立っている。生態毒性試験 (Ecotoxicity testing) とは、生態系および生態系を構成する生物に対する化学物質等の影響を評価する試験を指す。その試験内容としては、毒性による症状や生物体内での毒性発現のメカニズムから、環境中における化学物質の動態、生物種間による影響の感受性の違い、その結果から生じる生物群集構造の変化等が含まれる。生物応答 (Bioassay: バイオアッセイ, 生物学的定量) とは、生物材料を用いて、生物の生存維持、発育、その他機能を指標とした生物作用から、化学物質による影響を評価する手法である。生物体に対する影響を生物応答によって、生死、成長、発生あるいは生殖の観点から、個体群レベル (population) へと影響評価を行うことにより、これらの生態毒性試験から、生態系に及ぼす化学物質の影響を個体群レベルにおいて評価することが必要となる。生物体に対する化学物質の影響は、生物の死が最も強い生物反応であり、この致死反応 (致死的影響) は短時間で現れるため、急性毒として扱われる。一方で、繁殖阻害、成長阻害や性比の攪乱など、連続的に曝露されて致死に至らないまでも現れる生理的影響 (亜致死的影響) を慢性毒いう。慢性毒は、世代間にも渡り影響することから、試験生物の発生から生長、繁殖能力までを試験項目に含めたライフサイクル試験も生態毒性試験には必要である (畠山, 1998<sup>1-45</sup>)。一般的には、個体群のレベルで生態リスクを計ることにより、化学物質による様々な反応をする毒性影響を個体群増加率の低下として推定することが可能である。

生態系の保全には、生態系に生息するすべての種に対して化学物質の影響を評価する必要がある。ただし、すべての種の評価には、試験に要する時間・費用・施設等による制

約から、非常に困難である。そのため、少ない試験工程で多くの影響評価を計るための試験方法が求められる。そこで、生態系全体への影響と捉える一つの手法として、水系におけるキーストーン種（keystone species）への影響評価がある。キーストーン種とは、その存在の有無が生態系の性質に非常に大きな影響を及ぼす種であり（鷲谷・矢原，1996<sup>1</sup>・46），そして、生態系における指標種に対する保全の追求が、生物多様性の保全そのものに貢献できるところが大きいと考えられている（Noss，1990<sup>1</sup>・47）。

あるいは、人為的に実験生態系を用意して、生物間相互作用を組み込んだ試験手法もある。

以上から、人間や家畜に対する影響だけでなく、各対象生物種に対する致死的影响評価に加え、実際の野外環境における影響の評価に向けた、致死には至らぬものの影響を及ぼす亜致死的影响や生物間相互作用を踏まえた間接的影響の評価まで実施していくことが必要である。

## 2.2 国外・国内における生物応答を用いた生態毒性評価・管理手法の導入

### 2.2.1 国外の動向

かつて、1970年から1980年代にみられた人間の健康被害を脅かす水質汚濁は、米国の水質汚染防止法および他の諸国における法規則によって、対策が強化されるごとに水質環境は改善していった。当初、化学物質の管理制度に関わる試験法は、米国、EUで独自に開発されていたが、1970年代半ばにOECD（経済協力開発機構）が、健康や環境とともに貿易や経済への影響を未然に防止し、円滑な貿易を行うことを目的として、国際的に合意された試験方法としてテストガイドライン（TG）を策定した。TGは、以下の五つのセクションに区分されおり、（1）物理化学的特徴（Physical Chemical Properties）、（2）生態系への影響（Effects on Biotic Systems）、（3）生物分解および生物濃縮（Degradation and Accumulation）、（4）人健康影響（Health Effects）、（5）その他ガイドライン（Other Test Guidelines）、を取り扱っている（OECD，2016<sup>1</sup>・48）。これらセクションのうち「（2）生態系への影響」については、1980年になって、藻類（OECDテストガイドライン No.201, TG201）、ミジンコ（TG202）、魚類（TG203）の3種類に対する急性毒性試験が組み込まれた。これは、生態系における捕食・被捕食の関係として、水系における生態系のキーストーン種である藻類、ミジンコ、魚類（メダカ等）を、3栄養段階（一次生産者、一次消費者または植食者、二次消費者または捕食者）の代表種として捉えており、このキーストーン種に対する生態毒性試験は、現在においても標準的な試験方法として世界各国の化学物質による生物応答試験に用いられている。この期間における試験は化学物質の直接毒だけが調べられて、汚染物質の間接的影響または生物蓄積の影響までには対応していない。1984年になると、「（2）生態系への影響」には、新たな試

験法として魚類延長毒性試験 (TG204) が加わった他、鳥類への影響として鳥類摂餌毒性試験 (TG205) や鳥類繁殖試験 (TG206)、ミミズ急性試験毒性試験 (TG207)、ミツバチやユスリカ等の陸生生物種が順次含まれるようになった。

近年、ヨーロッパを中心に発生したミツバチ大量死が報告された。Sánchez-Bayo (2014<sup>1-49</sup>) によると、これは浸透移行性を有するネオニコチノイド系殺虫剤が土壤中に使用され、植物が土壌から吸い上げた殺虫剤成分を、花粉や蜜を介してミツバチが摂取したためである。しかし、ミツバチは殺虫剤成分を摂取しても、すぐには致死に至らぬものの、記憶、摂食、運動機能等の行動障害をきたし、結果致死に至る報告している。化学物質が使用される場所において、化学物質の動態とその生態系に生息している生物種を十分に把握しない限り、再び発生する可能性が高いと考えられる。

### 2.2.2 国内の動向

我が国は、第二次世界大戦以降、DDT、BHC、パラチオンや有機水銀をはじめとする農薬が普及したものの、人間や家畜、水産動物等への被害や環境汚染を契機に、1963年に農薬取締法に改正に伴い（第3条第1項第4号）、農薬の登録には、コイ (*Cyprinus carpio*) の48時間における半数致死濃度が0.1ppm以下であるという基準が設けられた。この基準によるコイへの試験結果が、コイ以外の生物種との感受性の違いにより、結果が乖離しているために、主に農林水産省の農薬検査所等（現：独立行政法人農林水産消費安全技術センター、FAMIC）が魚類（キンギョ、メダカ、ドジョウ）、甲殻類（ミジンコ、ザリガニ）、両生類（トノサマガエル幼生、アカガエル幼生、トウキョウダルマガエル幼生、ヒキガエル幼生、ウシガエル幼生等）、水生昆虫（アキアカネ幼虫、シオカラトンボ幼虫、コミズムシ若虫、マツモムシ成虫等）等の幅広い生物種に対して、毒性試験を行っている（例えば、西内・吉田、1971<sup>1-50</sup>、1972<sup>1-51</sup>；西内、1972<sup>1-52</sup>、1981<sup>1-53</sup>、1989<sup>1-54</sup>）。

2003年になり、OECDによる勧告や化学物質管理に関する国際動向から、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」が改正された。これにより、我が国における化学物質の安全性の審査には、新規化学物質の製造又は輸入の届出を事業者が行う際には、生態毒性試験の試験結果の提出が求められるようになった。化審法の改正を受けて、2005年には農薬取締法が改正された。これにより、化学物質の登録申請に際して、生態毒性試験の試験結果の提出が求められるようになり、毒性評価には、藻類、甲殻類、魚類の毒性評価が必要となった。試験生物は従来、コイの1種から、標準試験生物種としてコイとニホンメダカ (*Oryzias latipes*)、追加試験生物種として、OECDテストガイドライン推奨種であるゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)、ファットヘッドミノール (*Pimephales promelas*)、ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)、グッピー (*Poecilia reticulata*)、ブルーギル (*Lepomis macrochirus*) の5種が追加となった。甲殻類は、標準試験生物種としてオオミジンコ、追加試験生物種として、ヌマエビまたはヌカエビ、ヨ

コエビ、ユスリカの 3 種となった。藻類は標準試験生物種として緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) と定められた。また、提出項目として、曝露評価が追加された。曝露評価において、化学物質の環境中の予測濃度が、水生生物に対する急性影響濃度を上回る場合は、登録が保留される。この評価は段階式 (tier) システムであり、評価基準をクリア出来ない場合は、次の段階へと移行し、より費用がかかるが制度の高い厳密な試験結果に基づく評価が行われる (早川, 2006<sup>1-55</sup>)。第 1 段階 (Tier1 PEC) は、数値計算によって環境中予測濃度が算出される。続いて、第 2 段階 (Tier2 PEC) では、水質汚濁性試験と地表流出試験の結果を用いて算出、第 3 段階 (Tier3 PEC) は水田圃場試験の結果を用いて算出される。

以上により、我が国における農薬は、化審法と農薬取締法によって、使用が登録された薬剤が使用されている。しかし、試験生物種のみの影響評価であることに加え、それらの結果が室内試験で行われた点を考慮すると、野外環境下の現象とは、乖離していることが考えられる。そこで、近年注目されている試験方法として、実験 (擬似) 生態系を用いた化学物質の影響評価があり、その一例として、水田メソコスム (五箇・早坂, 2013<sup>1-56</sup>) やライシメータ (神宮宇ら, 2009<sup>1-57</sup>) が使用されている。

### 2.3 魚類を用いた生態毒性評価に関する知見

魚類を用いた毒性評価の試験法としては、1980 年の OECD における魚類急性毒性試験 (TG203) が古典的であり、現在においても標準的な試験方法として世界各国の化学物質による生物応答試験として用いられている。TG では 2011 年には魚類胚期急性試験 (TG236) が追加され、2014 年には魚類延長毒性試験 (TG204) が廃止となった。TG204 の廃止理由は、他の試験法がより望ましい選択とされたためと、生物実験である以上、この試験法は倫理的に不適切であることが判断基準となった (OECD, 2012<sup>1-58</sup>)。近年の動向として、供試される発達段階が、従来の成体から、魚類の胚期に代替的させることによって、低コスト化や試験の短時間化に貢献が期待される。

OECD の急性毒性試験 (TG203) に推奨される魚種は、ニホンメダカ、ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)、ファットヘッドミノー (*Pimephales promelas*) とされており、特徴として、いずれの種も室内飼育が用意であり、世代サイクルも短く、繁殖が年中可能な魚種である。これまで、我が国における農薬取締法で用いられてきたコイは、試験条件は全長 5cm であり、例えば、ニホンメダカは 2cm であるため、魚種間における感受性の違いが生じる。魚類の種間の感受性差における不確実係数としては、標準試験生物種および追加試験生物種の 7 種類全てについて試験データの提出があった場合、不確実係数を「2」とする。分類学上の骨鰾上目に属する魚類 (コイ、ゼブラフィッシュ、ファットヘッドミノー) から 1 種類以上、原棘鰭上目に属する魚類であるニジマスおよび棘鰭上目に属する魚類 (ヒメダカ、グッピー、ブルーギル) から 1 種類以上の計 3 種類以上の魚種につ

いて試験データの提出があった場合には、不確実係数を「4」とする。それ以下の魚種数について試験データの提出があった場合には、不確実係数を「10」とする。ただし、標準試験生物種であるコイ又はニホンメダカは常に含めなければならない（早川，2006<sup>1-55</sup>）。

## 2.4 リスクアセスメントを介した農薬の生態毒性評価に関する知見

現行の毒性評価の試験データの多くは、室内試験における試験結果であるため、生物種が同一であっても、水田生態系を始めとする実環境中においてはその影響が試験データとは乖離することが指摘されている（早坂，2013<sup>1-59</sup>）。水田といった実環境中の生物種に対する農薬の影響について、リスクアセスメント（*risk assessment*）なる化学的なリスクの見積もり及び評価のプロセスを実施する場合、対象の生物種の個体数を把握するためにモニタリング調査が必要となる。モニタリング調査の実施には、管理者である農業者に対して理解と活動協力が必要不可欠である。加えて、調査には専門家だけでは、調査人員が少ないため、そのための人員確保の策として、例えば市民参加型に代表される非専門家によるモニタリングも有効な調査手法である（堀本ら，2013<sup>1-60</sup>）。Kendallら（1996<sup>1-61</sup>）や Jiguet（2009<sup>1-62</sup>）は、調査に2年以上の継続者がいる場合、技術の学習効果によって、調査に対する貢献度が高いとされている。これらを踏まえて、水田生態系における生物種の保全を想定する際には、管理者である農業者によるモニタリング調査の実施が、迅速な栽培技術の変更に繋がるため、非常に有効な手段であると考えられる。

しかし、実態としては、粟生田ら（2013<sup>1-63</sup>）は、農業者の環境保全意識を高めることを目的にアカトンボ調査を実践し、アカトンボに対する農薬と中干しについてリスクアセスメントを実施しているものの、提案された保全対策を実水田に導入するまでには至っていない。

## 第3節 本研究の目的と構成

### 3.1 研究の目的

ドジョウに対する農薬の生態毒性評価の手法の確立を目的として、水稻用農薬である育苗箱施用殺虫剤の影響について、室内試験において円形水槽を用いたと小型ライシメータを用いたマイクロコスム（*microcosm*）試験、メソコスム装置を用いたメソコスム（*mesocosm*）試験、本大学の実験圃場（以下、実験圃場とする）におけるマクロコスム（*macrocosm*）試験を実施した。曝露する個体の大きさや試験様式を替えることにより、ドジョウの発達段階の違いによる感受性の関係や他の生物種を介した影響、行動の変化という評価項目を用いて、評価を行うことによりその結果と課題について検討した。各試験系における影響評価の結果から、本種に対して影響が少ない農薬の施用方法を現場へ導入することを目的として、管理者による実践を通じた適正な毒性試験の開発を実施し



た。管理書を生物モニタリング調査に参加させて、実環境中における生態毒性評価試験を保全対象種に対する影響を低減させることを目的に薬剤が選定された事例から考察を加えて、提案を行うことが必要である。加えて、ドジョウの保全と個体数回復に資する育苗箱施用殺虫剤の選定と導入されるまでの過程を今後の展望として提示するまでを生態毒性評価の手法として開発することが、本研究の目的である。

### 3.2 研究対象種

ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* (Fig. 1-1) はコイ目ドジョウ科に属する淡水魚であり、日本全土、台湾、中国大陸及び朝鮮半島に広く分布している(宮地ら, 1976<sup>1-64</sup>)。本種は、水田や小水路を産卵場や仔魚の生育場として利用し、ミジンコ類やイトミミズ類、植物種子を捕食することが知られている(久保田, 1961<sup>1-65</sup>)。本種は、郷土料理に食材として利用されており、石川県金沢市では蒲焼き、東京都浅草地域では、どぜう鍋や柳川鍋の材料として有名である。韓国では、どじょうの味噌汁として추어탕(読み: チュオタン)や酢入りで唐辛子味噌の蒸し和物である추어숙회(読み: チュオスッケ)の食材として利用されている。また、本種は水田環境のアンブレラ種である大型鳥類の餌資源として利用されていることが知られており、ダイサギ(*Ardea alba*)、チュウサギ(*Ardea intermedia*)、アオサギ(*Ardea cinerea*)のサギ類(片山ら, 2015<sup>1-66</sup>)をはじめ、現在、佐渡市と豊岡市で取り組まれている絶滅危惧種であるトキ(*Nipponia nippon*)やコウノトリ(*Ciconia boyciana*)にも捕食するため、これら希少種の野生復帰にとっても水田内のドジョウの個体数と生産量の増加は、重要な課題とされている(村田, 1999<sup>1-67</sup>; 総務省, 2013<sup>1-68</sup>; 環境省, 2015<sup>1-69</sup>)。近年では、耕作放棄地の活用方法の1つとして、ドジョウ養殖池として利用することも知られている(北陸農政局, 2012<sup>1-70</sup>)。

しかし、2015年に環境省第四次レッドリスト(2015<sup>1-71</sup>)においてDD(Data Deficient, 情報不足)として掲載された。本種の減少要因としては、国外外来種のカラドジョウとの交雑による遺伝子汚染に加えて、水田周辺の水域ネットワークの分断による生息地の減少や農薬による生息地の悪化が挙げられる。ドジョウに対する農薬の試験データはこれまでに、水質汚濁が社会問題となった1960年から80年代に渡り、報告が散見されている(例えば、久保田, 1957<sup>1-72</sup>; 長沢ら, 1963<sup>1-73</sup>; 長沢・柴, 1969<sup>1-74</sup>; 板沢・木村, 1963<sup>1-75</sup>; 浅野ら, 1964<sup>1-76</sup>; 西内ら, 1971<sup>1-77</sup>, 1980<sup>1-78</sup>, 1986<sup>1-79</sup>; 西内, 1971a<sup>1-80</sup>, 1971b<sup>1-81</sup>, 1971c<sup>1-82</sup>, 1971d<sup>1-83</sup>)。この当時は、農薬は有機リン系殺虫剤を始めとする、現在では我が国では使用が認められていない薬剤が多く占められている。一方で1990年以降から2003年に化審法改正されるまでの期間においても、ドジョウを対象とした試験の報告は極めて乏しく、減少要因に指摘されている農薬施用による影響は、薬剤名を含め不明である。



Fig. 1・1 ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* の外観  
Outline of whet *Misgurnus anguillicaudatus* (Osaki, Miyagi prefecture, TL 69 mm)

### 3.3 研究の構成

本論文の構成を Fig. 1-2 に示し、下記の構成および内容とする。まず第 2 章では、水田に越冬するドジョウの分布と体長組成を把握し、試験供試個体の体長を決定するために、宮城県大崎市田尻地域の春耕起前の水田 20 筆を対象に発掘調査を行った。水口と水尻部の畦畔沿いの水溜りが形成されている箇所から、標準体長（以下、体長と示す）は平均 58 mm（35～82 mm）の個体が採捕されて、このことから、ドジョウは育苗箱施用殺虫剤の散布当初から曝露される可能性を有することが示唆された。

第 3 章では、致死的影響と亜致死的影響を把握するために、ドジョウの生物学的最小形と成熟個体を対象に小型ライシメータおよび実験圃場による試験を行い、育苗箱施用殺虫剤の曝露によるドジョウへの生態毒性評価を実施した。初年度は生物学的最小形を対象に体長 60 mm 台の供試個体を使用し、次年度には成熟個体を対象に体長 80 mm 台の個体を使用してイミダクロプリド、クロラントラニプロール、カルタップおよびフィプロニルの 4 剤の影響を斃死、肥満度と生殖腺指数の 3 項目から生態毒性評価をした。その結果、全ての試験区において供試個体の斃死は確認されなかったものの、雌の生物学的最小形はフィプロニルの曝露環境下において、対照区比で生殖腺指数の低下が確認された。一方で成熟個体においては、生殖腺指数の低下が確認されなかった。以上から、フィプロニルは小型の雌ドジョウに対して生殖腺の発達に影響を与え、結果として個体数減少に関わる可能性があると考えられた。

第 4 章では、亜致死的影響と間接的影響に焦点を当てて、室内試験と野外試験を行い評価した。室内試験では、イミダクロプリドとフィプロニルを対象に円形水槽を用いた 96 時間毒性試験と遊泳試験を実施した。また、野外試験ではメソコス装置を用いて、育苗箱施用殺虫剤のクロラントラニプロールとフィプロニルの 2 剤による生物最小形から成熟個体まで（体長 50～109 mm）の影響評価に加え、PRC 解析を用いてドジョウの餌資源であるミジンコ類やイトミミズ類を含めた生物群集への影響を評価した。この結果、イミダクロプリド処理区では 1000 µg/L 濃度区、フィプロニル条件下では、100 µg/L 濃度下でも 96 時間毒性試験で致死には至らなかった。しかし、フィプロニル処理区における個体は、対照区比で遊泳阻害が生じることが確認された。

第 5 章では、現場への保全策の導入を目的として、管理者による実践を通じた適正な毒性試験の開発を試みた。すなわち、水田の管理者である農業者を生物モニタリング調査に参加させて、実環境中における生態毒性試験を保全対象種の保全を目的に薬剤が選定された事例から考察を加え、提案を行った。また、ドジョウの保全と個体数回復に資する育苗箱施用殺虫剤が選択されて、導入されるまでの過程を今後の展望として提示した。

以上により、本研究の成果は、ドジョウに対する農薬の影響を低減させるのみならず、水田生態系の保全対象種に対しても水稲用農薬の評価手法へ応用が可能であり、我が国の安全な農薬使用と生態系保全への貢献させることが目的である。

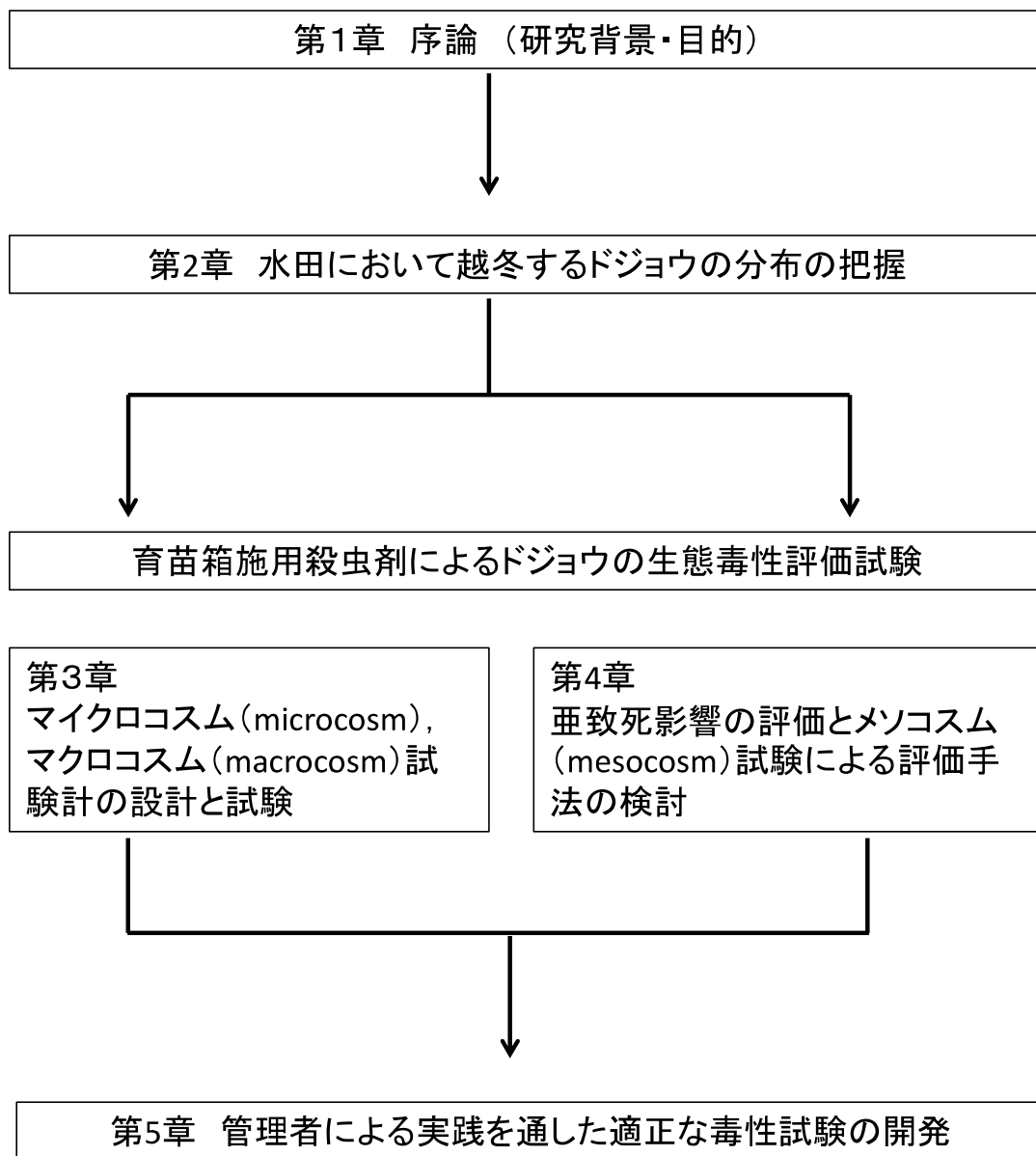


Fig.1-2 本論文の構成  
Constructs of this thesis

## 第2章 水田において越冬するドジョウの分布の把握

### 第1節 本章の目的および研究における位置

淡水魚は、基本的に淡水域を通じて移動分散を行ってきており、我が国においては、水田や小水路ならびに河川を含む水域ネットワーク内において、季節や生活段階に応じて各要素間を移動し、利用場所を変化させていることが知られている。特に水田を利用する種は、水田の水管理にあわせた生活史を備え持っており、近年、水田が多くの淡水魚の生息や繁殖場として機能を有していることが明らかとなってきた（斉藤ら, 1988<sup>2-1</sup>; 皆川ら, 2006<sup>2-2</sup>; Suzuki et al., 2008<sup>2-3</sup>）。水田を生息、繁殖場として利用する魚種としては、主にコイ科をはじめ、ナマズ科、メダカ科やドジョウ科が占めている（斉藤ら, 1988<sup>2-1</sup>）。なかでも、ドジョウ科のドジョウは鰓呼吸、皮膚呼吸と腸呼吸を行うため（末広, 1933<sup>2-4</sup>; 平山ら, 1967<sup>2-4</sup>）、水中のみならず、落水時には土壤中に潜り、呼吸して生存することが可能である。それにより、ドジョウは生活様式が他の淡水魚とは異なり、本種が水田内で生息する期間は、湛水期間である春期の水入れから秋期の落水にかけてのみならず、稲刈り以降から翌年の作付にかけて水田内の土壤中に留まることが可能である。また、水田の水入れによって、春先以降にドジョウが水田へ侵入することが知られている（田中, 2001<sup>2-6</sup>; 皆川, 2013<sup>2-7</sup>）。

育苗箱施用殺虫剤とは、現在の我が国における初期水稲用農薬では、主流の殺虫剤である。この薬剤は、1980年代から乗用型田植え機の普及に伴い、徐々に普及し始めた（上田・神宮宇, 2013<sup>2-8</sup>）。この殺虫剤の特徴として、浸透移行性を有することが挙げられる。すなわち、田植えの際、人力あるいは散布機によってイネの株元へ施用後、薬剤は植物の根から吸収されて、植物体内へと移行する。そのため、植物体内に含まれる害虫が、摂食行動によって薬剤を体内に取り込むため、水稲害虫に対してのみ致死に至らしめる効果を有する。防除対象としては、水稲初期害虫に該当するウンカ類やイネミズゾウムシ、イネドロオイムシに加え、水稲中期害虫であるコバネイナゴを対象とする長期残効性の有する薬剤も存在する。育苗箱施用殺虫剤が開発される以前の殺虫剤は、田植え後、薬剤を空中散布させる散布形態と取られており、既存剤と比較すると育苗箱施用殺虫剤は飛散量が少なくなるため、農業者に対して、農作業中による薬剤中毒の危険性が低下という利点の他にも、水田生態系の生物種に対して、曝露量の低減に繋がり、生態系全体に対する影響は低くなることが考えられる。しかし、近年になり、育苗箱施用殺虫剤のうち、ネオニコチノイド系のイミダクロプリドがミジンコ類（Hayasaka et al., 2012<sup>2-9</sup>）やフェニルピラゾール系のフィプロニルがトンボ科若虫（例えば、小山・城所, 2003<sup>2-10</sup>）に対して減少を招くことが明らかとなった。

ドジョウに対して育苗箱施用殺虫剤が曝露される時期としては、水田内に越冬あるいは水入れに伴い水田へ侵入した個体に対して、田植え直後から薬剤に曝露されることが想定される。まずは、育苗箱施用殺虫剤の影響を鑑みる上で、曝露されうるドジョウの大きさを把握する必要がある。本種の越冬時に関してはこれまでに環境条件、例えば底質や湛水深の違いと本種の生存率については調べられているもの（竹村ら, 2012<sup>2-11</sup>）、冬期に本種が実際の水田においてどのように分布しているか調査

した報告は少なく、例えば、愛媛県松山市の水田地帯で実施されたドジョウの発掘調査では、落水直後の水口部付近の土壌中においてのみ、6筆中2筆で未成魚と成魚が確認されたが、稚魚は確認されなかった（田中，1999<sup>2-12</sup>）。一方で、栃木県宇都宮市の水田地帯を対象とした調査では、土壌中からは本種は採捕されないものの、排水不良により形成された水溜りにおいて、その年に生まれた当歳魚が採捕されたと報告されている（鈴木，2003<sup>2-13</sup>）。本種が地域の違いにより、越冬状況に差異が生じるかは不明であるものの、埼玉県において大友（2005<sup>2-11</sup>）は、湛水深が深いほど、ドジョウ越冬の生存率を高めると述べており、茨城県つくば市においては、竹村ら（2012<sup>2-11</sup>）が、湛水深の違いによる本種の生存率はいずれも50%であり、湛水深によるドジョウ越冬の生存率の違いは確認されなかったと報告している。特に東北地域における冬期は、先行研究の実施地域と比べて、北部に位置するため、ドジョウの越冬環境下における温度変化がより激しいことが予想される。しかし、東北地域における本種の越冬状況については、野外ならびに実験環境によって述べられた報告は非常に乏しい。

そこで本章では、育苗箱施用殺虫剤の施用前の春先におけるドジョウの越冬個体の分布を把握するために、宮城県大崎市田尻地域の水田地帯を対象として、春期の春耕起前の4月に発掘調査を実施し、水田におけるドジョウの生息ならびに体長組成から、分布を把握し、育苗箱施用殺虫剤の生態毒性試験に用いる供試個体の参考にするために実施した。

## 第2節 春季において水田内に生息するドジョウの越冬個体の把握

### 2.1 調査概要

発掘調査をする上で、はじめにドジョウが水田においてどのように分布しているか把握する必要がある。先行研究に基づき、本種は落水後の水田において、水口部の土壌中に本種が生息していること（田中，1999<sup>2-12</sup>）、また、水溜りが形成されている場合は、土壌中よりも水溜りに生息していること（鈴木，2003<sup>2-13</sup>；大友，2005<sup>2-14</sup>）を踏まえて調査区画を設定した。つまり、その年に水稻栽培が行われた水田を対象とし、水田では比較的に水が集まりやすい水口部と水尻部付近を調査範囲として調査区画を設けて発掘を実施した。調査範囲内で水溜りが確認された場合は、優先的に発掘調査の区画として選定した。また、鈴木（2003<sup>2-13</sup>）は水溜り内にドジョウが確認されたと報告しているため、目視により水中のドジョウの生息を確認した後、土壌を掘り起こして生息を調べた。

#### 2.1.1 調査地の選定

本調査を実施するにあたり、宮城県大崎市田尻地域を管轄しているJAみどりの（宮城県大崎市）営農指導部へ調査をお願いし、調査圃場の提供に協力してくれる農業者を募った。

圃場の選定条件は、以下の通りである。まずは、その年に圃場が水田として水稻栽培に利用されていたことに重点を置いた。加えて、ここでは農薬の使用履歴は考慮せずに、調査実施年の4月上旬の時点で秋耕起と春耕起が未実施の水田を対象とした。各調査水田の諸元は表2.1に示す通りである。2015年4月25日に3筆、2016年4月13日～15日に17筆を調査実施した。また、調査で確認され

た個体は、持ち帰ったため、2015年と2016年の調査地は重複しないようにした。

### 2.1.2 越冬個体の生息調査

本調査の様子を Fig. 2-1 に示す。実施日は2015年4月25日に3筆、2016年4月13日～15日に17筆で行った。また、2016年には、同時期に調査水田地帯を流れる排水路のうちの1本の柵(Fig. 2-2; 長さ1.2m×水路幅1.2m×土壌厚5cm; 水深5cm)において、土砂を掘り起こしてビニールシートの上に敷き、ドジョウの確認と採捕を実施した。1区画あたりの調査面積は1m四方(面積:1m<sup>2</sup>)、発掘の深さは30cmと定めた。調査区画の選定条件の詳細については、次の通りである。まずは、水口側、水尻側の各畦畔から5mまでを発掘調査の調査範囲とし、調査範囲のうち水尻側と水尻側から、それぞれ3つの調査区画を選定して、水田1筆あたり6区画の発掘調査を実施した。土壌はビニールシートとバットの上に敷いて、現地において目視の確認によるドジョウの生息を調べた。ドジョウが採捕された場合は、現地から持ち帰り、その日のうちに標準体長(以下、体長とする)と体重を電子ノギス(CD-15P, Mitsutoyo; 0.01mm)と電子天秤を(BJ310, Sartorius社; 0.01g)を用いて計測した。キムタオル(日本製紙クレシア)でドジョウを軽く押さえ、ドジョウの体表面に付着している水滴を取り除いてから、天秤皿へ乗せた。ドジョウの区分は、久保田ら(1965<sup>2-15</sup>)に基づき、標準体長15mmまでを仔魚、15～50mmを稚魚、50～80mmを未成魚、80mm以上を成魚として扱った。

また、得られた個体の体長と体重の記録から、魚類の健康度合いを把握するために、以下の式により、肥満度(Condition factor; 以下、CFと示す)を算出した。

$$CF (\%) = \frac{\text{体重 (g)}}{(\text{標準体長 (cm)})^3} \times 1000$$

## 2.2 調査の結果

### 2.2.1 越冬個体の生息状況

20筆の発掘調査から、春耕起前の水田土壌ならびに排水路の柵から確認されたドジョウの体長組成は Fig. 2-3 に示したとおりである。本調査で確認されたドジョウは、すべて水溜り(Fig. 2-4)の土壌中から発見された。一方で、水溜りが形成されていない土壌からは本種の生息は確認されなかった。また、既存の研究で報告されている水溜りの水中では、ドジョウの生息は確認されなかった。水田からは、20筆中7筆、計19尾のドジョウが採捕された。平均体長ならびに標準偏差(以下、SD)は、56.5±11.7 mm(最小個体35.0mm, 最大個体81.8mm)となり、内訳として、成魚が1尾(5%)、未成魚が12尾(63%)、稚魚が6尾(32%)となった。確認された個体数の半数以上が未成魚を占めた。一方、排水路の柵では水深5cmが保持されており、目視によりドジョウの遊泳が確認された(Fig. 2-5)。柵の接続水路は、U字型コンクリートであり、調査時は水が2cm程度湛水していたものの、水



Fig. 2-1 発掘調査の様子  
Outlines of excavation in the paddy field



Fig. 2-2 排水路柵の外観  
Outlines of pit in drainage canal



路内に土砂は堆積していなかった (Fig. 2-2). 柵内では, ドジョウが 31 尾採捕されて, 平均体長と SD は  $49.9 \pm 10.5$  mm (最小個体: 38.9mm, 最大個体: 87.37mm) であり, その内訳として, 成魚が 1 尾 (3%), 未成魚が 9 尾 (30%), 稚魚が 20 尾 (67%) となった. しかし, 水田と排水路におけるドジョウの体長の大きさに有意差は確認されなかった (Welch t-test, F 値: 26.6,  $P > 0.05$ )

また, 水田土壌中で確認された個体の肥満度は,  $5.9 \pm 0.7$  を示し, 排水路柵で確認された個体の肥満度の  $5.0 \pm 0.9$  と比較したところ, 両者において有意な差は確認されなかった (Welch t-test, F 値: 20.5,  $P > 0.05$ ).

調査水田の取水様式については, 堰板が設けられた堰板式とパイプライン化が施されたパイプライン式の 2 つの様式が確認されて, それぞれで 14 筆中 6 筆, 6 筆中 1 筆で土壌中にドジョウの生息が認められた.

## 2.3 考察

### 2.3.1 水田内における越冬個体の分布状況

水田における越冬個体と排水路の柵で採捕された個体と比較すると, 水田で確認された個体の平均体長は排水路の個体よりも大きく, 全体のうちの約 6 割を未成魚が占めていた. 久保田 (1961<sup>2-16</sup>) は, 冬期における河川の泥土内の越冬個体を調査して, 採捕された 134 尾の内訳として, 仔魚が 22 尾, 未成魚が 97 尾, 成魚は 6 尾であり, 越冬個体の約 7 割が未成魚で占められており, 最も頻度が高かったと報告している. このことは, 今回, 水田土壌中から採捕された越冬個体の結果に対しても合致しており, 総じて, 成魚に満たない仔魚あるいは未成魚が大多数を占めていることが明らかとなった.

また, 水田の灌漑様式とドジョウの分布の違いについては, 堰板式とパイプライン式のいずれの様式においてもドジョウは分布していることが確認された. 斉藤 (1997<sup>2-17</sup>) や Fujimoto ら (2008<sup>2-18</sup>) が報告している様にパイプライン式や水田水路の落差による, 水域ネットワークの分断化が要因と考えられる. パイプライン式で越冬個体が確認された水田は, 魚類の侵入を目的とした水田魚道は設けられておらず, 水路との落差が 30cm 以上あったことから, 確認された個体 (体長 57mm) の水田への侵入は, 前年の灌漑期においてパイプラインの取水由来と考えられる.

### 2.3.2 水入れ時期に水田内に存在するドジョウの体長分布の把握

皆川ら (2007<sup>2-7</sup>) は, 取水から 10 日以内にドジョウの成魚 (体長 80mm 以上) が水田へ侵入し, 取水 17 日以降には, ドジョウの仔魚が水田から脱出していることを報告している. このことは, 水田の水入れに伴い侵入した個体あるいは越冬個体が水田内で繁殖していることが考えられる. 今回の調査では, 成魚は水田土壌から 1 尾 (体長 82mm), 排水路柵で 1 尾 (87mm) が確認されており, 水田の入水以後に繁殖することが考えられる.

本調査の結果を踏まえて, 田植えの水入れに伴い, 水路から成魚が水田へと侵入し, 水田内で繁殖

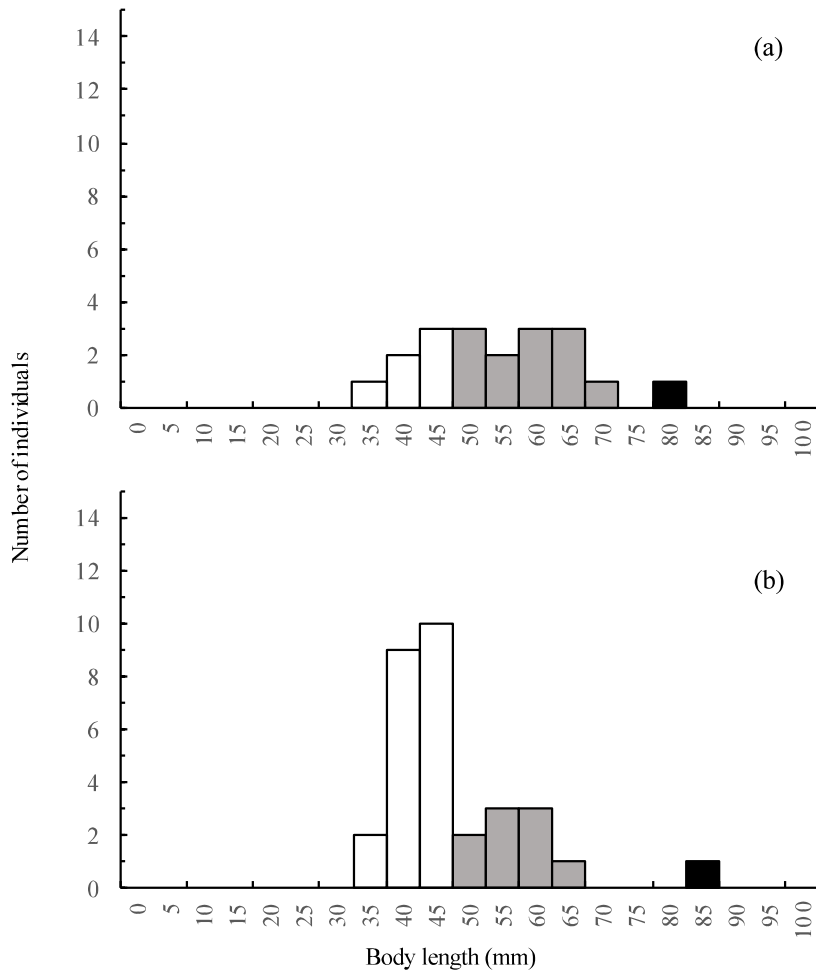


Fig. 2-3 ドジョウの越冬個体の体長組成

Comparisons of the frequency distribution of *Misgurnus anguillicaudatus* of the body length of the individuals from (a) paddy fields and (b) pit in drainage canal (Open bars, larva (<50 mm TL); shaded bars, juvenile (50 ≤ TL < 80 mm); closed bars, adult (≥80 mm TL).)



Fig. 2-4 越冬個体が確認された水田

Outline of paddy field which found *Misgurnus anguillicaudatus* in soil



Fig. 2-5 水田土壌におけるドジョウ

Outline of *Misgurnus anguillicaudatus* in the soil of paddy field



Fig. 2-6 排水路枿の水中で確認されたドジョウ

Outline of *Misgurnus anguillicaudatus* in water of pit of drainage canal

活動に寄与するが想定される。

## 2.4 小括

宮城県大崎市において、昨年度に水稻栽培に使用された未耕起の水田と排水路柵を対象として土壌の発掘調査を実施した。春先の水田土壌中ならびに排水路柵で確認されたドジョウの越冬個体は、総じて体長が 80mm に満たない未成魚、稚魚が半数を占めていることが明らかとなった。また、既存研究で報告されている、水田侵入後に繁殖活動をすると考えられる成魚も水田土壌と排水路から確認された。このことから、田植え時に水田に施用される育苗箱施用殺虫剤に曝露が想定される個体の大きさは、大部分 80mm 未満であり、また 80mm 以上の成魚に対しても調べる必要があると考えられる。

## 第3章 マイクロコスム(microcosm)、マクロコスム(macrocsm)

### 試験系の設計と試験

#### 第1節 本章の目的および研究における位置

生態系に内包される生物群集の構成員は、その空間やエネルギーの一部を利用することにより、他の個体や生態系に対して何らかの影響を及ぼす。そこで、生態系における、ある特定の要因が及ぼす影響を観察するためには、生態系の一部を隔離し、限られた空間において実験を行い、観察によって情報収集する工夫が必要となる。このように実験のために生態系を隔離させた空間を実験生態系 (experimental ecosystem) と呼ぶ。これまでに、実験生態系を用いた生物種への影響評価手法は、室内試験、野外試験、規模を問わず、化学物質による生物種への影響評価 (Abbott, 1925<sup>3-1</sup>)、物質循環とエネルギーの流れ (Lin et al., 1999<sup>3-2</sup>)、群集構造や栄養・生物間相互作用 (Foekema et al., 1998<sup>3-3</sup>; Bergstrom and Englund, 2002<sup>3-4</sup>)、生活史や行動あるいは生存等の研究目的に使用されてきた。特に、これらの実験を行う上では、試験系の大きさが重要とされている。それは、実験目的となる現象を抽出し、再現性を確保する上で、実験時の環境条件の操作性は、試験系の大きさに影響されるためである (高橋, 1993<sup>3-5</sup>; Petersen et al., 2003<sup>3-6</sup>; 岩崎, 2016<sup>3-7</sup>)。一般的に、実験生態系の試験系は、Table 3-1 に示した通り、ビーカー程度の大きさであるマイクロコスム (microcosm) は、人為的な操作が容易であるものの、一方で、マクロコスムでは規模の大きさから、緩衝性も備えている。このため、生物の生活は野外の自然環境下で営まれており、室内試験による結果を、野外へ適応することは容易ではないと考えられている (岩崎, 2016<sup>3-7</sup>; Cairns, 1983<sup>3-8</sup>; Levin et al., 1984<sup>3-9</sup>)。

これまでにドジョウに対する農薬の影響については、養殖魚の斃死が社会問題となった1960年代から1980年代にかけてドジョウに対する報告 (例えば、久保田, 1957<sup>3-10</sup>; 長沢ら, 1963<sup>3-11</sup>; 西内, 1971a<sup>3-12</sup>, b<sup>3-13</sup>, c<sup>3-14</sup>, d<sup>3-15</sup>) が散見されるが、これらは室内試験における結果であり、現在では使用規制されている有機塩素系や有機リン系殺虫剤等の薬剤が散見される。一方で近年の報告では、中西ら (2009<sup>3-16</sup>) が殺虫、殺菌、除草剤を1回ずつ施用する慣行水田においてドジョウの当歳魚がほとんど採集されないことを報告しているものの、使用薬剤は不明である。農薬の影響を評価する上では、実際の水田環境を考慮して、農薬の複合影響についても考慮すべき必要がある。つまり水田では、省力化を目的として、水稻初期にあたる移植後に残効性が長い殺虫・殺菌剤と除草剤を一度に処理することが主となりつつあるためである。ただし複合影響評価手法としては、工業用途の化学物質を対象とした全排水毒性 (WET) 手法があるものの、農薬については複雑さから未だに制度化には至っていない。複合影響の予想モデルには、化学物質の作用機構が同じ場合には CA モデル (Concentration Addition; Faust, 2001<sup>3-17</sup>)、作用機構が異なる場合には IA モデル (: Independent Action; Faust, 2003<sup>3-18</sup>) があるものの、いずれにしてもまずは

Table 3-1 実験生態系の特徴  
Property of experimental ecosystems

	microcosm	mesocosm			macrocosm	
Properties	Reproducibility				Long life	
	Operability				Diversity of trophic levels	
	Uniformity				Nature's reproducibility	
	Economic efficiency				Large dispersion capacity	
				Cushioning		
size	I	II	III	IV	V	
capacity (m <sup>3</sup> )	< 1	10	100	1000	1000 <	
area (m <sup>2</sup> )	< 0.1	1	10	100	100 <	

Date from Takahashi (1993<sup>3,5</sup>) and EDIT.

単独の生物種に対する影響評価が必要となる。

現在の水稲栽培で使用されている農薬のうち、水稲初期の移植前に育苗箱の苗の根本に施用する育苗箱施用殺虫剤の主成分を対象とした野外環境下における影響評価に関しては、これまでに神宮字ら（2009<sup>3-17</sup>）や Hayasaka ら（2012<sup>3-18</sup>）をはじめ、水生生物を対象として影響報告がある。しかし、魚類を試験対象とした報告は、メダカ *Oryzias latipes* (Kasai, 2016<sup>3-19</sup>) を除き、非常に乏しい。

そこで本章では、ドジョウに対する育苗箱施用殺虫剤の影響を評価することを目的として、ライシメータと実験圃場において生態毒性評価試験を実施し、その結果と課題について検討した。

## 第 2 節 小型ライシメータを用いたマイクロコスム試験

### 2.1 研究の課題

第 2 章の結果に基づき、水溜りの存在する水田において、ドジョウは主に標準体長（以下、体長と示す）50～80mm 未満の未成魚が土壌内に生息していることが明らかとなった。皆川ら（2009<sup>3-20</sup>）は、水田の水入れに伴い体長 60mm 台のドジョウが侵入すると報告している。性的に成熟する大きさを生物学的最小形（biological minimum size）を呼ぶ。生殖については、久保田（1961<sup>3-21</sup>）によると、ドジョウは体長 49mm から肉眼で生殖線が確認され始め、体長 51cm から生殖腺より雌雄を判別可能となる。そして、70～80mm になると排卵が可能となる（久保田ら、1965<sup>3-22</sup>）。ここではドジョウの生物学的最小形を体長 70～80mm として扱うこととする。本種は、水田を生息ならびに繁殖場として利用するため、まずは生物学的最小形に至る前の成長段階である未成魚を対象として、体長 60mm 台の個体を用いて生態毒性試験を実施することとした。続いて、生物最小形に対する影響評価するために、体長 80mm 台の個体を用いて、同じく育苗箱施用殺虫剤の影響を評価した。

本章では、田植え前に未成魚のドジョウを放流後、稲株の根本に育苗箱施用殺虫剤を施用して、ライシメータに移植し、放流から 8 週間の観察を行うことで、致死的影响と亜致死的影响を評価することが課題である。

### 2.2 研究方法

#### 2.2.1 試験系の作成

本試験は、2014 年と 2015 年の 5 月から 7 月にかけて宮城大学太白キャンパス（仙台市）で実施した。各試験装置にはステンレス製の小型ライシメータ（Fig. 3-1；面積=0.175m<sup>2</sup>；以下、ライシメータとする）を用いた。装置内に本大学の実験圃場（以下、実験圃場とする）の農薬が 6 年以上施用されていない土壌（軽埴土，LiC，Light Clay）を厚さ 15cm になるまで充填した。ライシメータには表面排水と地下浸透排水のための排水口が設けてある。水収支の調整は、蒸発散に





Fig. 3-1 マイクロコスム試験に使用したライシメータ装置の外観  
Outlines of the paddy mesocosm experiments: Micro-paddy lysimeter

加え、ライシメータの地下浸透排水を行った後、一定の湛水深まで注水した。薬剤散布から1週間は湛水深を30mmとし、この期間は止水管理をした。続いて5月27日からは湛水深を50mm、減水深を10mm/dとし、6月19日以降は湛水深を70mm、減水深は20mm/dとした。充填土壌は、過去6年間、殺虫剤は不使用の実験圃場の土壌（軽埴土）を用い、充填厚さは15cmとした。

**Table 3-2** にライシメータ試験における栽培管理を示す。2014年は5月17日に荒代かき、5月19日に本代かきの後、3cmほどの水深を保ち、各ライシメータに6尾のドジョウを放流した。これは、越冬個体および水入れに伴い本種が水田へと侵入していることを想定したためである。一方で2015年は、5月16日に荒代かき、5月18日に本代かきを実施し、5月20日の苗を移植し、装置内を湛水させた後、1区画毎に4尾のドジョウを放流した。また、この年のみ、試験開始から終了まで毎日、淡水で濾過処理したブラインシュリンプ (*Artemia* sp.) をライシメータ水面へ給餌して食べ切れる量を与えた。水管理については、初年度を参考にし、調査開始から同様の処理を施した。いずれの試験もドジョウを放流後は、鳥類による食害を防ぐためライシメータに防鳥網（目合：20mm）を設置した。

放流前と各週の採捕調査の際には、ドジョウの大きさを計測した。計測項目として、標準体長（以下、体長とする）を電子ノギス (CD-15P, Mitsutoyo ; 0.01mm) で計測し、体重を電子天秤 (BJ310, Sartorius 社 ; 0.01g) を用いて計測した。体重計測の前処理として、キムタオル（日本製紙クレシア）でドジョウを軽く押さえ、ドジョウの体表面に付着している水滴を取り除いてから、天秤皿へ乗せた。

### 2.2.2 水温計測

実験期間中におけるライシメータ内の水温の変動を把握するために、2014年と2015年のライシメータに水温データロガー（本体：SK-L200T II；センサ部：SK-LT II, 佐藤計量器製作所, 東京）を使用して1時間毎の水温を計測した。設置の際には、センサ部を水中に浸け、充填土壌の表面部付近に位置するようにした。2015年は、ドジョウ放流の5月20日から6月5日の期間、故障・交換のため、水温記録の欠損が生じた。欠損値を補うために、仙台管区気象台（仙台市宮城野区）の観測データから気温の特別値を引用し、計測値と観測値の近似式ならびに相関係数を求め、気温の観測からライシメータ装置の水温へと欠損値の代入を行った。

### 2.2.3 供試魚の選定

供試個体として用いるドジョウは、大分県農林水産研究センター・水産試験所・内水面研究所の景平真明氏の紹介を受けて、大分県内の養殖業者から、地下水で養殖された個体を取り寄せて用いた。

**Table 3-3** に供試個体の詳細を示す。2014年は、供試個体の到着日にイラストマー蛍光タグ (Northwest Marine Technology Inc.) の装着を実施して、平均体長  $64.0 \pm 4.4\text{mm}$  (52.0~74.0mm) の個体識別後、馴化飼育を施した。2015年には、ドジョウの標識には鱗切除法を用いた。すな

わち、供試個体の到着日に胸鰭あるいは臀鰭の左右いずれか 1 箇所切除を実施した。平均体長  $79.3 \pm 4.9\text{mm}$  (69.8~90.7mm) の個体の鰭切除による個体識別を施した。いずれの年も 7 日間の順化飼育をした。順化飼育には、2014 年は本大学の実験圃場の灌漑水を用い、2015 年には水道水を活性炭濾過処理した飼育水において順化させて本試験に使用した。それぞれの順化に使用した水は、ドジョウ放流の 24 時間前からエアレーションによる曝気を行った。順化期間における死亡個体が確認されなかった。順化期間中は、2 日に一度給餌（川魚のエサ、キョーリン）をして、試験開始の 24 時間前からは与えなかった。

#### 2.2.4 薬剤の選定と処理方法

本試験に使用した育苗箱施用殺虫剤は、次の 4 剤を選定し、いずれも単剤を試験に用いた。各薬剤の物理化学性は **Table 3-4** に示し、それぞれの有効成分と魚毒性（カッコ内に記載）（日本植物防疫協会、2011<sup>3-20</sup>）は以下の通りである。

イミダクロプリド（A 類）は、アドマイヤー箱粒剤（イミダクロプリド 2.0%、バイエルクロップサイエンス）を使用した。イミダクロプリドはネオニコチノイド系殺虫剤である。ニトロメチレン骨格を持ち、ニコチン性アセチルコリン受容体と結合することで、神経興奮を遮断し害虫を麻痺させて死亡させる。この薬剤は優れた殺虫活性と浸透移行性、残効性を有し、なおかつ作物への薬害も少ない薬剤とされる。クロラントラニリプロール（B 類）は、フェルテラ箱粒剤（クロラントラニリプロール 0.75%、デュポン）を使用した。クロラントラニリプロールは、ジアミド系殺虫剤である。ヨウ化フタルアミド骨格を持ち、鱗翅目昆虫に対して高い効果を示す。作用機構は、昆虫の筋肉細胞小胞体膜状上に存在するカルシウムチャンネルに結合することにより、カルシウムイオンの細胞質への異常放出、体収縮症状、摂食活動の停止を引き起こして致死に至らしめる。クロラントラニリプロールは、新規の作用点であるために既存農薬による抵抗性害虫にも有効とされ、近年全国的に普及している薬剤である。カルタップ（B・s 類）は、パダン粒剤（カルタップ 4.0%、住友化学）を使用した。カルタップはネライストキシン系殺虫剤であり、昆虫の神経系に作用する。フィプロニル（C 類）は、フェニルピラゾール骨格を有するフェニルピラゾール系殺虫剤である。作用機構は、神経結合部において、本剤が抑制性神経伝達物質である  $\gamma$ -アミノ酪酸（GABA）の作用を阻害させることによって、塩素イオンチャンネルは不活性化し、塩素イオンの流入がなされずにシナプス後膜電位は低下しないため、神経興奮の抑制を阻害し害虫が死亡に至る。これら 4 剤にコントロール区を加えた計 5 条件それぞれ 3 反復のライシメータを設けて実施した。

2015 年は使用薬剤として、クロラントラニリプロールとフィプロニルの 2 剤を選定した。2 剤とコントロール区を加えた計 3 条件を設けて、それぞれ 5 反復で実施をした。薬剤散布から、24 時間後、72 時間後、7 日後、30 日後に、柄杓（ステンレス製）を用いて、1 L 遮光瓶（アズワン）へ移し、冷暗所にて保管後、はそれぞれ専門業者へ分析依頼をした。クロラントラニリプロールは、（日本エコテックス㈱、福島県）により LC-MS/MS 法で分析を実施した。フィプロニルは、（株

Table 3-2 マイクロコスム試験の栽培管理  
Experimental cultivation managements in microrocosm experiments

Cultivation management	Year	
	2014	2015
	Imidacloprid, Chlorantraniliprole, Cartap, Fipronil, Control	Chlorantraniliprole, Fipronil, Control
Seeding variety	<i>Hitomebore</i>	
Plant cultivation density	22 hills / m <sup>2</sup>	
Weeding	Handwork	
Tilling	May 13	April 28
Irrigation	May 16	May 15
Padding and leveling	May 17, 19	May 16, 18
Transplanting rice seedlings	May 19	May 20
Releasing loaches	May 21	May 20

Table 3-3 マイクロコスム試験の供試個体  
Property of test body in microrocosm experiments

Properties	Year	
	2014	2015
	(0.175 m <sup>2</sup> )	(0.175 m <sup>2</sup> )
Method of marking fish	Elastmer tags	Fill clipping
	Unfed	Fed
Acclimation period (days)	7	6
Number of release	6	4
Density (N / m <sup>2</sup> )	34.3	22.9
Body length (Mean SL ± SD)	64.0 ± 4.4	79.8 ± 4.9

Table 3-4 使用薬剤の物理化学性と生態毒性試験のスコア

Physicochemical properties and acute toxicity of Imidacloprid, Chlorantraniliprole, cartap and fipronil.

Properties	Imidacloprid	Chlorantraniliprole	Cartap	Fipronil
Water solubility at 20°C (mg / L)	610 <sup>a</sup>	0.88 <sup>a</sup>	200,000 <sup>a</sup>	3.78 <sup>a</sup>
Sorption to soil (Koc)	132 - 310 <sup>b</sup>	100.1 - 526 <sup>b</sup>	-	548 - 1,720 <sup>b</sup>
Aqueous photolysis DT <sub>50</sub> at pH 7 (days)	0.2 <sup>a</sup>	0.31 <sup>a</sup>	-	0.33 <sup>a</sup>
Acute toxicity				
Crustaceans (48 h EC <sub>50</sub> : µg / L)				
<i>Daphnia magna</i>	85000 <sup>a</sup>	11.6 <sup>a</sup>	65 <sup>b</sup>	190 <sup>a</sup>
<i>Moina macrocopa</i>	45,271 <sup>c</sup>	-	12,500 - 25,000 <sup>b</sup>	29.57 <sup>a</sup>
Fish (96 h LC <sub>50</sub> : µg / L)				
<i>Cyprinus carpio</i>	170,000 <sup>b</sup>	> 15,000 <sup>d</sup>	600 <sup>b</sup>	340 <sup>b</sup>
<i>Lepomis macrochirus</i>	105,000 <sup>b</sup>	> 15,100 <sup>d</sup>	-	85 <sup>b</sup>
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	211,000 <sup>b</sup>	> 13,800 <sup>d</sup>	-	248 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Data from Pesticide Properties Database (<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/index.htm>).

<sup>b</sup> Data from Japan Plant Protection Association (2011).

<sup>c</sup> Data from Hayasaka et al. (2011).

<sup>d</sup> Data from United States Environmental Protection Agency (2008).

環境公害研究センター（石川県）で GC/MS 法で分析した。

苗品種はひとめぼれを用いて、栽植密度には 22 株/m<sup>2</sup>を採用した。薬剤の散布量は、規定散布量の育苗箱 1 箱当たり 50g に基づき、1 株当たり 0.039g とした（神宮宇ら，2009<sup>3-17</sup>）。薬剤は電子天秤（CP2245，Sartorius 社）で計量後、育苗箱で育苗した 4 葉齢の稲の根元に散布して、充填土壌の Table 面から約 3cm 埋め込みした。

### 2.2.5 ドジョウの採捕方法

2014 年は、金魚網（50mm×50mm）を用いて採捕を実施した。まずは給油ポンプを用いてライシメータの水を一時的にトタン製バケツへ移し、水位の低下後に金魚網 2 本を用いて、目視による確認後にドジョウの体の両側面から掬い取った。ドジョウの体長と体重を計測後は、保管していた水をライシメータの壁面を伝わらせて装置内に戻し、土壌を巻き上げないように極力努めた。2015 年は、採捕の省力化を目的として、ペットボトル製トラップを用いてドジョウを捕獲した。餌は練り餌（九ちゃん，マルキュー社）を利用した。トラップの設置と回収は、1 日朝夕 2 回の採捕を実施し、計測後の個体は速やかに元の試験区に戻した。

本試験開始 8 週間後に採捕されたドジョウは、4-アミノ安息香酸で麻酔後、生殖腺を摘出して、電子天秤（CP2245，Sartorius 社）で生殖腺重量を計測した。また、試験期間におけるドジョウの産卵の有無を確認するため、8 週目のドジョウの採捕以後も目視による稚魚の確認調査を 4 週間実施した。

### 2.2.6 ブラインシュリンプ急性毒性試験

本試験は、2015 年 6 月 2 日に本大学の実験室で実施をした。ブラインシュリンプは、塩水湖で生息するホウネンエビ科の属名である。ブラインシュリンプの休眠卵は乾燥耐性があり、適度の温度の海水環境に導入すると 24 時間以内に孵化するため、魚類の飼料として用いられている。ただし、ブラインシュリンプは淡水環境では長時間生存できない。そこで、2015 年にライシメータ試験においてブラインシュリンプを給餌するにあたり、淡水環境かつ薬剤成分の違いにおけるドジョウの餌としての有効性を評価するために、実験圃場で採水した施用 72 時間後のクロラントラニリプロール、フィプロニル、コントロール区の田面水を用いて、ブラインシュリンプの急性遊泳阻害試験を実施した。供試ブラインシュリンプは、曝露開始時に 24 時間齢未満のものを使用した。採水した田面水を、駒込ピペットを用いて 100ml ビーカーに 100ml 注水し、孵化 24 時間以内のブラインシュリンプを 1 ビーカーあたり約 10 尾投入した。観察は 1 時間おきに行い、観察の際はビーカーを回して田面水を軽く攪拌させた後、双眼実体顕微鏡（SZ61，Olympus）を用いて観察し、15 秒間第二触覚が動かない個体を死亡とみなした。試験期間中は、室温 20℃で、かつ明条件にて実施し、観察時以外は、異物の混入をさけるためにビーカーの口にラップを被せて、20℃に設定されたチャンバーの中で保管した。

## 2.2.7 評価方法

育苗箱施用殺虫剤の影響を、斃死による致死的影響と斃死以外による亜致死的影響から評価を試みた。致死的影響は、以下の式に基づき、致死率により算出した。コントロール区において死亡個体が認められた場合は、次の計算式から補正死亡率を算出した (Abbott, 1925<sup>3-1</sup>)。

$$\text{Corrected \%} = \left[ 1 - \frac{\text{処理区内の生存率 (\%)}}{\text{コントロール区における生存率 (\%)}} \right] \times 100$$

また、ブラインシュリンプ急性毒性試験には、以下の式により、生存率 (Survival probability; *SP* と示す) を算出した。

$$SP (\%) = \frac{\text{生存個体数}(n)}{\text{投入個体数}(n)} \times 100$$

亜致死的影響の評価には、ドジョウの健康度合いと成熟状態を推定するため、供試個体の体長、体重ならびに生殖腺重量から以下の式により、肥満度 (Condition factor) と生殖腺指数 (Gonado somatic index) を算出した。

$$CF (\%) = \frac{\text{体重 (g)}}{(\text{標準体長 (cm)})^3} \times 1000$$
$$GSI (\%) = \frac{\text{生殖腺重量 (g)}}{\text{体重 (g)}} \times 100$$

なお、算出された死亡率、肥満度と生殖腺指数については、値が比率であるため、群間における検定を実施する際には、角変換後の値を Leven 検定によって分散性を確認し、等分散が確認された場合は、一元配置分散分析 (ANOVA) を実施し、全体としての有意差を検討した上で、Dunnnett 検定を用いて各処理区の検定を行った。肥満度を放流前と放流後とで同じ処理区内で比較・検定する際は、F 検定を実施し、分散性に応じて、Welch の t 検定と Student の t 検定を使い分けて使用した。これらの各検定には、R (version 3.3.2) を用いた。

## 2.3 試験の結果

### 2.3.1 ブラインシュリンプのドジョウの餌としての有効性

クロラントラニプロールおよびフィプロニルの施用 3 日目の田面水と、農薬成分を含まない田面水それぞれに、ブラインシュリンプを曝露させて、1 時間毎に生存を確認した。各時間におけるブラインシュリンプの生存率を Fig. 3-3 に示す。

各条件ともに、試験開始から 5 時間目までの生存率に有意な差は確認されなかった (ANOVA, F 値: 3.26,  $P > 0.05$ )。しかし、試験開始から 6 時間を経過すると、クロラントラニプロール処理区では飼育水を用いたコントロール区と比較して、生存率に有意な差が確認された (Dunnnett, t 値; 2.99,  $P < 0.05$ )。以降、7 時間目から 9 時間までにかけて、クロラントラニプロール処理区はコントロール区と比べて、生存率が低下することが確認された (Dunnnett,  $P < 0.01$ )。一方、

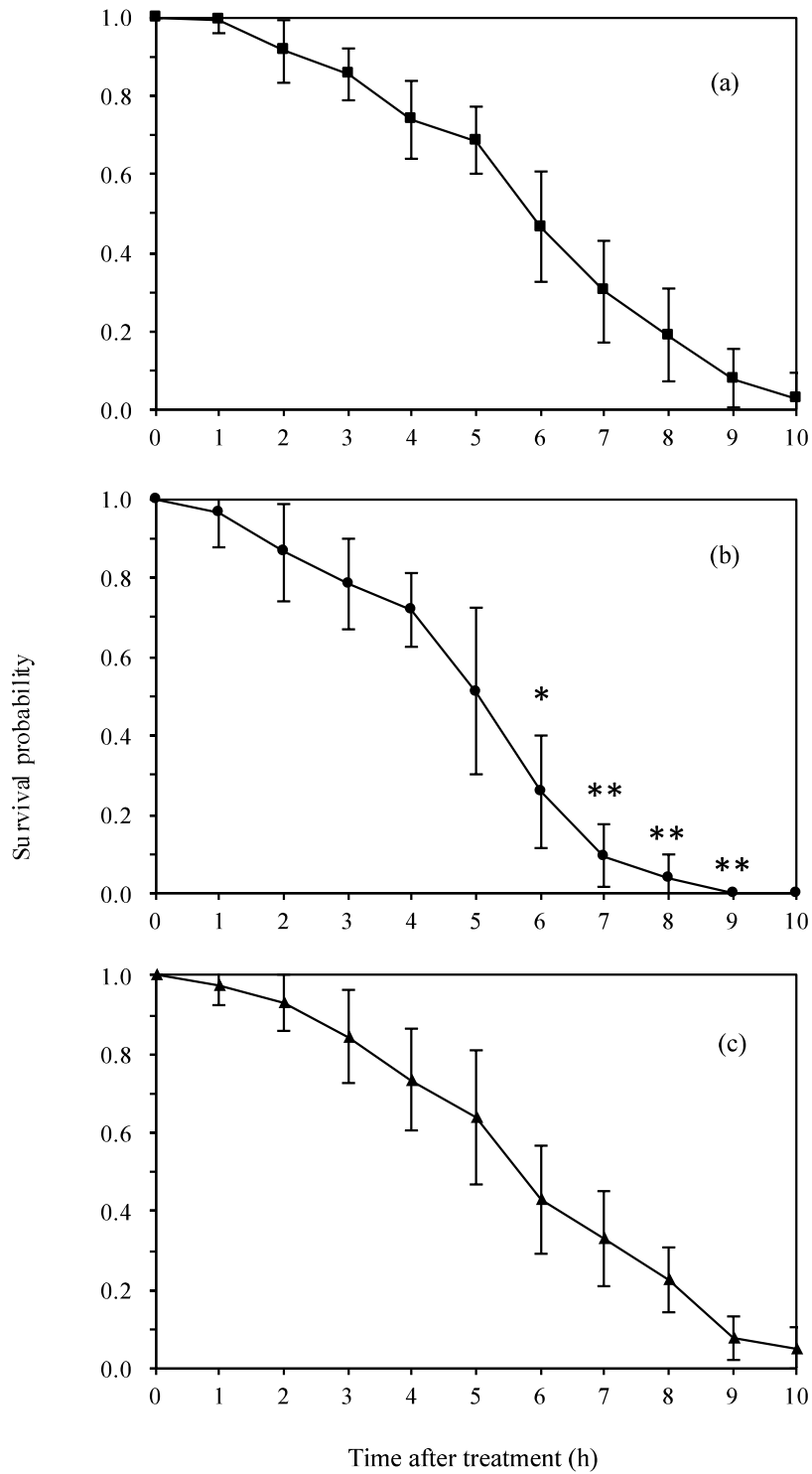


Fig. 3-3 ブラインシュリンプの生存率

The survival probability of *Artemia* sp. in freshwater samples (a : rearing water, b : chlorantraniliprole, c : fipronil. Error bars indicate standard deviation. \* and \*\* denote significant differences between treatment group and rearing water ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ))



フィプロニル区については、概ねコントロール区と同じ生存率を示し、いずれの時間でも飼育水と生存率に有意な差は確認されなかった (ANOVA,  $P > 0.05$ )。試験開始 9 時間目には、いずれの条件でもブラインシュリンプの生存率は 1 割を下回った。

### 2.3.2 水温動態

マイクロコスム試験における 2014 年および 2015 年の水温動態を Fig. 3-3 に示す。欠損値を補正するにあたり、計測された水温と仙台管区気象台で観測された 1 時間ごとの温度を基に推定された関係式は次のとおりであった。

$$WTt = 8.2647e^{0.045t} \quad R^2 = 0.70233$$

$t$  : 仙台管区気象台の 1 時間毎の気温 (°C),  $WTt$  : 気温  $t$  の時の水温 (°C)。

また、2014 年の水温の特徴としては、6 月は雨天が続いたため、2015 年と比べて、6 月上旬の約 10 日間は 20°C 程度で定位した。また、6 月末の 5 日間 (6 月 25 日から 7 月 1 日まで) の日水温変動が ±3°C 以下の日が確認された。

### 2.3.3 農薬濃度動態

マイクロコスム試験で確認されたクロラントラニプロールとフィプロニルの濃度動態を Fig. 3-3 に示す。

クロラントニプロールは、施用 1 日目 (24 時間後) には  $11.6 \pm 11.0 \mu\text{g/L}$  を示した。3 日目には  $27.3 \mu\text{g/L}$  となり、実験期間中の極大値を示した。施用から 7 日目においても  $24.8 \mu\text{g/L}$  を示したが、施用 30 日目では濃度は  $4.5 \pm 2.7 \mu\text{g/L}$  となり、最大濃度の 5 分の 1 程度まで低下した。フィプロニルについては、施用から 1 日目では  $0.75 \pm 0.67 \mu\text{g/L}$ 、施用 3 日目では  $0.74 \pm 0.09 \mu\text{g/L}$  を示した。施用から 7 日目では  $1.21 \pm 0.33 \mu\text{g/L}$  となり、試験期間中における極大値となった。施用から 30 日目においては  $0.42 \pm 0.43 \mu\text{g/L}$  を示した。

### 2.3.4 致死率

2014 年、2015 年ともにマイクロコスム試験期間における斃死個体は確認されなかった。

ただし、2014 年は本試験の実施期間中に、採捕後の保管容器からの脱出に伴う乾燥死により、4 尾の死亡個体が発生した。また、2014 年 6 月 29 日の降雨 (日降水量 52.0mm ; 1 時間最大 16.0mm ; 仙台管区気象台) に伴うライシメータの水位上昇により、ライシメータから供試個体の流出が確認された。同日の 17 : 00 までに 23 尾のドジョウを回収し、その日のうちに、回収された個体の体長と体重を計測、記録して、次回の採捕調査まで各個体をシャーレ内で管理をした。7 月 2 日に実施した第 6 週目の採捕調査において、ライシメータから 61 尾が採捕され、流出後に回収された個体 23 尾と合わせて計 84 尾が回収された。流出個体をライシメータに再放流するにあたり、以下の処理を施した。はじめにイラストマータグの装着位置、体長ならびに体重の記録を参照し、推定が出来た個体は、23 尾の回収個体のうち 7 尾であった。残りの 16 尾については、

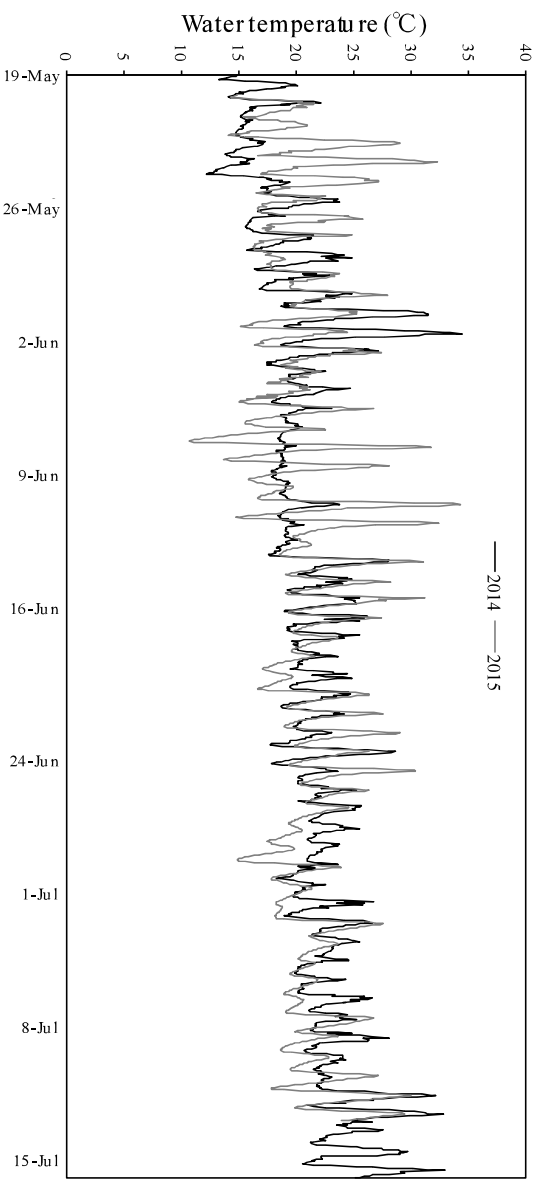


Fig. 3-2 マイクロコスム試験における水温動態  
Water temperature at the microcosm experiments

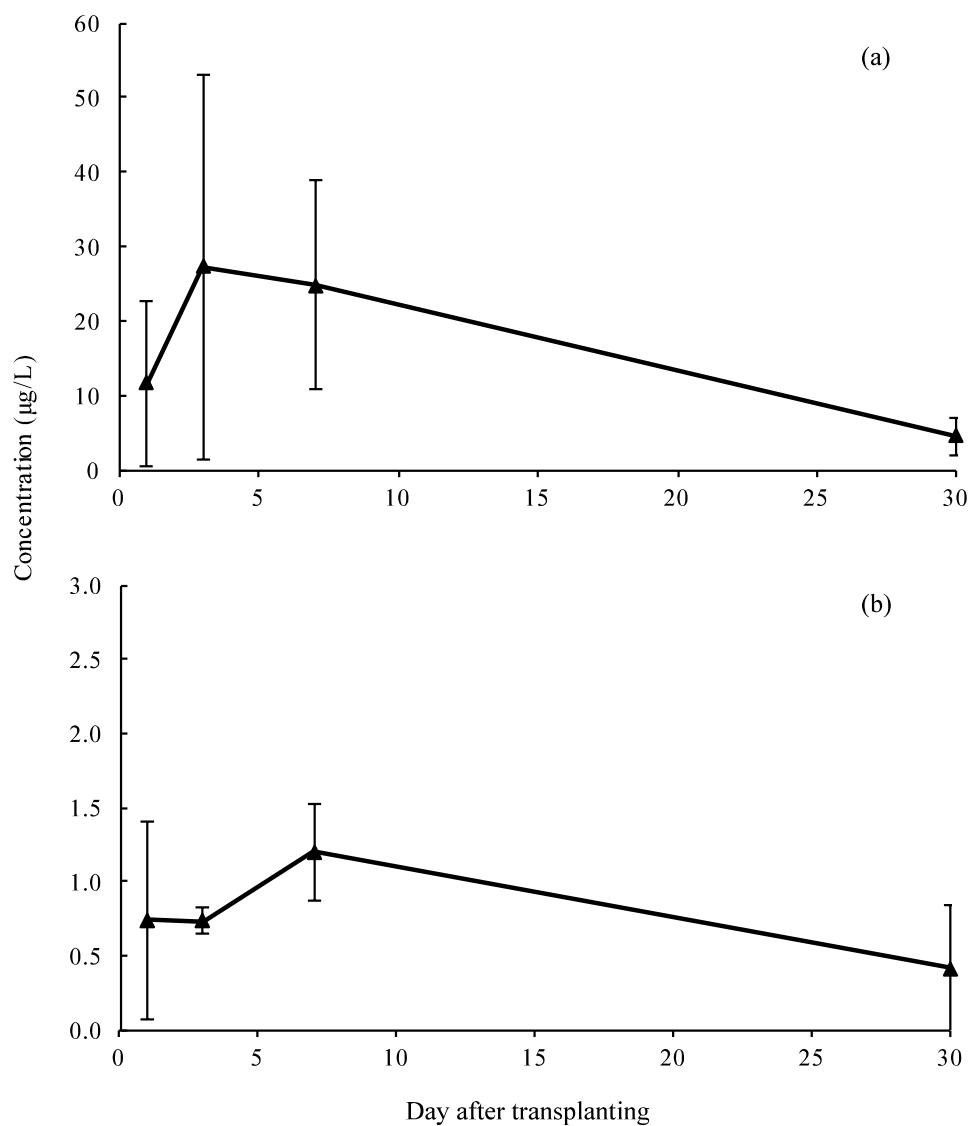


Fig. 3-4 マイクロコスム試験における農薬濃度動態

Environmental fate of (a) chlorantraniliprole and (b) fipronil in water of microcosm experiments (Error bars indicate standard deviation)

流出前までの採捕記録に基づき、定を行い、15尾を再漂流した。流出による行方不明の個体は3尾、また回収個体のうち1尾は流出直前の採捕記録と合致しない個体であったため、これらの個体についてはライシメータへ再放流は行わなかった。また、放流から8週目の採捕調査において、放流個体がすべて回収されることはなかった。

2015年は放流8週目の採捕調査により、全処理区からすべての個体を回収することが出来て、すべての個体の生存を確認した。

魚毒性分類が4剤の中で最も魚毒性が大きいC類のフィプロニル条件下においても、斃死個体は確認されなかった。

### 2.3.5 肥満度

2014年の肥満度は、個体流出事故の直後の6週目を除いて原則1週間毎に計測しており、試験期間中における薬剤処理区とコントロール条件下の肥満度の推移はFig. 3-5に示す。各週（放流前、1, 2, 3, 4, 5, 7, 8週目）における薬剤処理区及びコントロール区の肥満度は、以下に示した通りである。薬剤処理区では、まずイミダクロプリド区で、 $9.7 \pm (1.1)$ ,  $9.6 \pm (1.2)$ ,  $8.6 \pm (1.2)$ ,  $7.7 \pm (0.9)$ ,  $8.2 \pm (1.0)$ ,  $8.1 \pm (1.0)$ ,  $7.7 \pm (0.9)$ ,  $7.6 \pm (1.0)$ を示した。放流2週目の肥満度は1週目の肥満度よりも有意に低く（Student's t-test, t値: 2.63,  $P < 0.01$ ）、また、放流3週目の肥満度が2週目の肥満度よりも有意に低かった（Student's t-test, t値: 2.56,  $P < 0.01$ ）。続いて、クロラントラニリプロール区では、肥満度はそれぞれ $10.0 \pm (1.5)$ ,  $9.3 \pm (1.0)$ ,  $7.6 \pm (0.9)$ ,  $8.4 \pm (1.1)$ ,  $8.3 \pm (1.1)$ ,  $8.0 \pm (0.6)$ ,  $8.0 \pm (0.9)$ ,  $6.9 \pm (1.9)$ を示した。放流2週目の肥満度は1週目と比べて（Student's t-test, t値: 3.65,  $P < 0.01$ ）、また、放流4週目の肥満度は3週目の肥満度よりも有意に低いことが確認された（Student's t-test, t値: 2.22,  $P < 0.01$ ）。カルタップ区では、肥満度は $10.7 \pm (1.0)$ ,  $9.9 \pm (0.9)$ ,  $8.6 \pm (0.8)$ ,  $8.0 \pm (0.7)$ ,  $8.6 \pm (0.6)$ ,  $8.4 \pm (0.6)$ ,  $7.9 \pm (0.9)$ ,  $8.1 \pm (0.7)$ であった。放流2週目（Student's t-test, t値: 4.72,  $P < 0.01$ ）、3週目（Student's t-test, t値: 2.32,  $P < 0.05$ ）、4週目の肥満度（Student's t-test, t値: 2.76,  $P < 0.01$ ）が3週間に渡り、それぞれの前の週の肥満度よりも有意に低いことが確認された。フィプロニル区の各週の肥満度は、 $10.4 \pm (1.4)$ ,  $9.8 \pm (1.2)$ ,  $8.9 \pm (0.9)$ ,  $8.1 \pm (0.8)$ ,  $8.6 \pm (1.0)$ ,  $8.4 \pm (1.0)$ ,  $8.2 \pm (1.0)$ ,  $8.1 \pm (1.0)$ を示し、放流2週目（Student's t-test, t値: 4.72,  $P < 0.01$ ）と3週目の肥満度（Student's t-test, t値: 2.77,  $P < 0.01$ ）は、それぞれの前週の肥満度よりも有意に低いことが確認された。一方で、コントロール区においては、 $10.7 \pm (1.6)$ ,  $9.6 \pm (1.4)$ ,  $8.7 \pm (1.0)$ ,  $8.0 \pm (1.3)$ ,  $8.4 \pm (0.9)$ ,  $8.5 \pm (1.4)$ ,  $8.0 \pm (1.2)$ ,  $8.0 \pm (1.5)$ を示し、それぞれの前後の週における肥満度に有意差は確認されなかった（Student's t-test,  $P < 0.05$ ）。コントロール区を除き、薬剤処理区ではいずれも放流4週目までの肥満度は、前の週の肥満度と比較し、有意に低下する傾向を示した。

また、試験前から放流8週目にかけて、同時期における各薬剤処理区の肥満度をコントロール区と比較したものの、試験期間中においては、薬剤処理区とコントロール区との肥満度の違いは

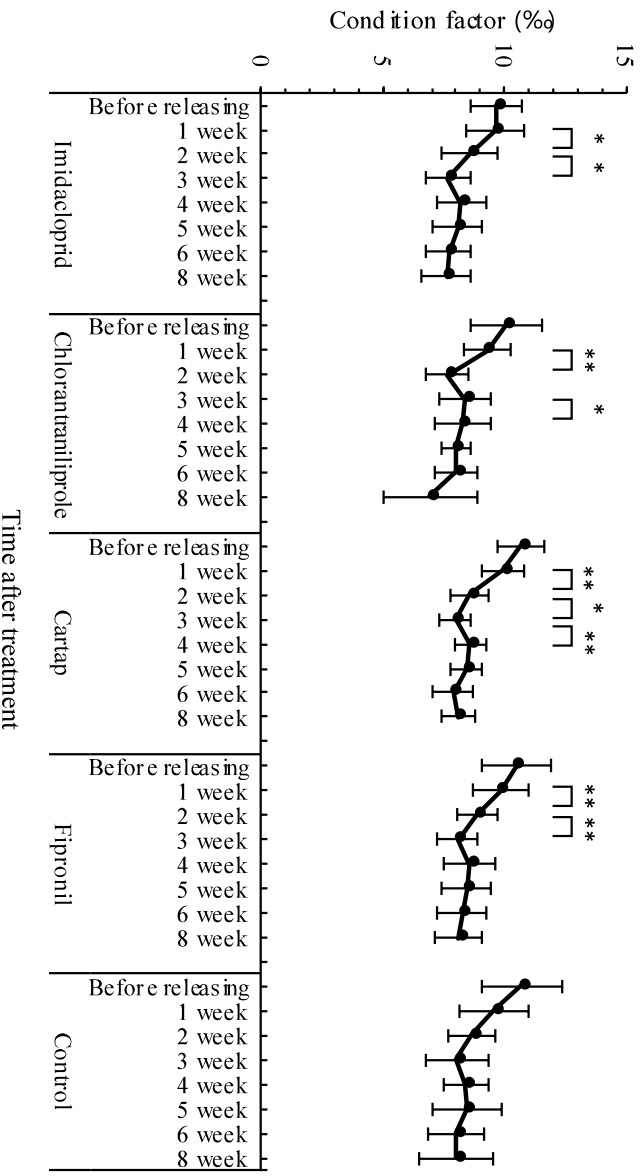


Fig. 3-5 マイクロコスモ試験における放流 8 週間の肥満度の推移

Weekly changes in mean condition factor (CF) of *Misgurnus anguillicaudatus* in microcosm experiments from the releasing to eight weeks (Error bars indicate standard deviation. \* and \*\* denote significant differences ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ))

確認されなかった (ANOVA,  $P > 0.05$ ). このことから、薬剤処理区の肥満度はコントロール区と同様に推移したものと考えられる。

また、2014年および2015年の採捕調査毎の肥満度をそれぞれ放流前と比較した。Fig. 3-6には各年の放流前と放流4週目の肥満度を示す。人為的な給餌は行わなかった2014年では、放流4週目の肥満度は、放流前のそれと比較したところ、すべての条件下で有意に低下していることが確認された (Student's t-test,  $P > 0.05$ ). そこで、放流1週目から3週目にかけて、それぞれの週の肥満度を放流前と比較すると、放流1週目では肥満度は低下を示さなかったものの (Student's t-test,  $P > 0.05$ ), 放流2週目以降の肥満度は、コントロール区を含む全条件下において、放流前の肥満度よりも低下を示すことが確認された (Student's t-test,  $P > 0.01$ ). この肥満度の低下は、放流8週目まで確認されて、調査期間全体を通して、放流前よりも肥満度が増加を示した処理区はコントロール区を含め、確認されなかった。一方で、ブラインシュリンプを給餌した2015年 (Fig. 3-6) においては、クロラントラニプロール、フィプロニル処理区およびコントロール区の全条件において、放流4週目の肥満度は放流前と比べて有意な差が確認されなかった (Student's t-test,  $P > 0.05$ ). ただし、放流8週目の肥満度は、すべての条件下で、放流前の肥満度と比べて、低下が確認された (Student's t-test,  $P < 0.01$ ).

### 2.3.6 生殖腺指数

放流8週間後の雌ドジョウの生殖腺指数を Fig. 3-7 に示す。2014年の各処理区における雌の生殖腺指数の平均値と標準偏差は、コントロール区では  $8.8 \pm 5.1$  を示した。薬剤処理区では、カルタップ処理区が  $9.3 \pm 3.8$  と最も高く、次いでイミダクロプリド処理区では  $6.3 \pm 2.0$ , クロラントラニプロール処理区で  $4.5 \pm 3.0$ , フィプロニル処理区が  $2.9 \pm 0.7$  であった。フィプロニル処理区で雌の生殖腺指数が最も低い値を示したものの、5群間における有意差は確認されなかった (ANOVA, F 値: 1.88,  $P > 0.05$ ). 2015年には、薬剤処理区としてクロラントラニプロールとフィプロニルの2剤とコントロール区の3条件で実施し、コントロール区では  $9.5 \pm 4.6$ , クロラントラニプロールでは  $11.6 \pm 4.8$ , フィプロニル区では  $10.0 \pm 4.6$  を示した。クロラントラニプロール区が最も高い値を示したものの、3群間における生殖腺指数の有意差は確認されなかった (ANOVA, F 値: 0.63,  $P > 0.05$ ).

## 2.4 考察

### 2.4.1 育苗箱施用殺虫剤4剤の致死性

フィプロニルの魚毒性分類は、C類と4剤の中で最も大きく、施用30日目においても、薬剤成分が田面水で確認がされた。ただし、試験における斃死個体は確認されなかった。また、魚毒性B-s類のカルタップについても、同様に斃死個体が確認されなかった。このことから、育苗箱施用殺虫剤は、ドジョウの成魚、未成魚に対して致死性が低いことが推察される。

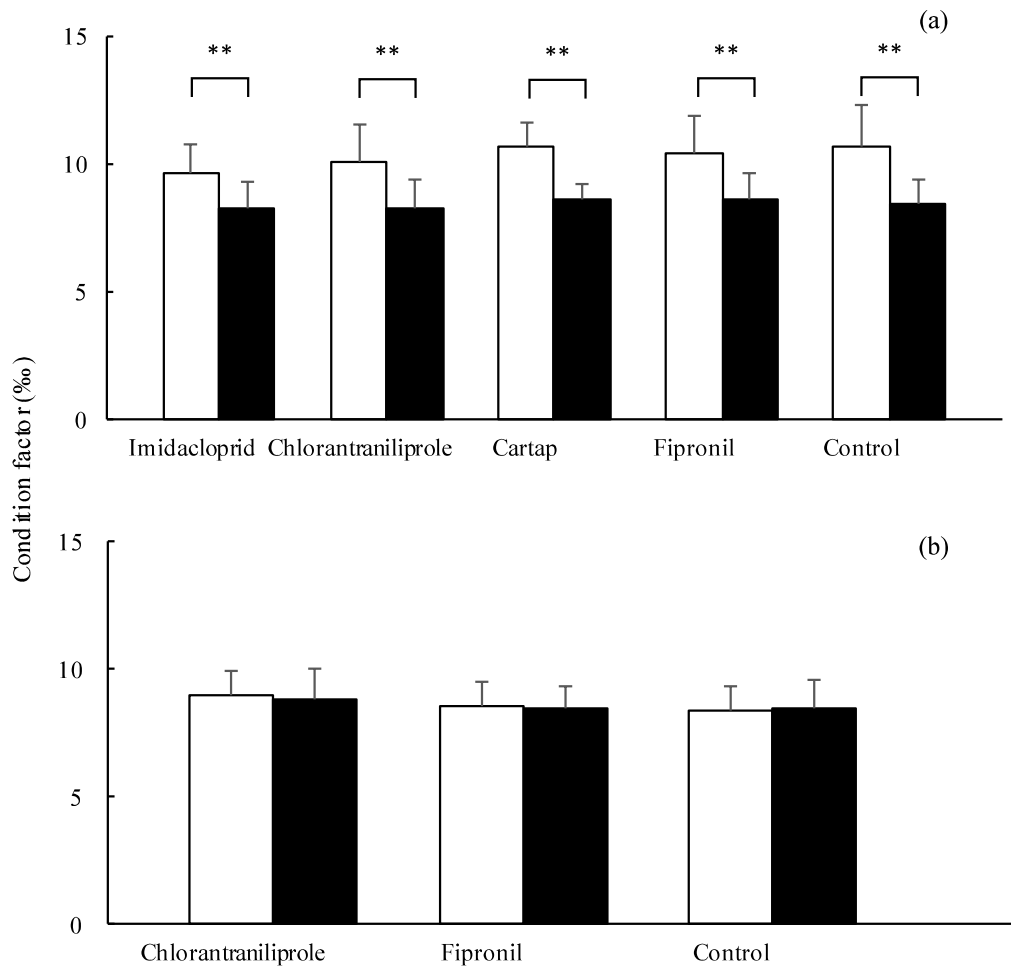


Fig. 3-6 マイクロコスム試験における放流4週目のドジョウの肥満度の比較  
 Condition factor (CF) of *Misgurnus anguillicaudatus* after four weeks from the releasing  
 in microcosm experiments (a: 2014, no fed; b: 2015, fed *Altemia. sp.*. Open bars, before  
 releasing, closed bars, four weeks after. Error bars indicate standard deviation. \*\* denote  
 significant differences ( $P < 0.01$ .)

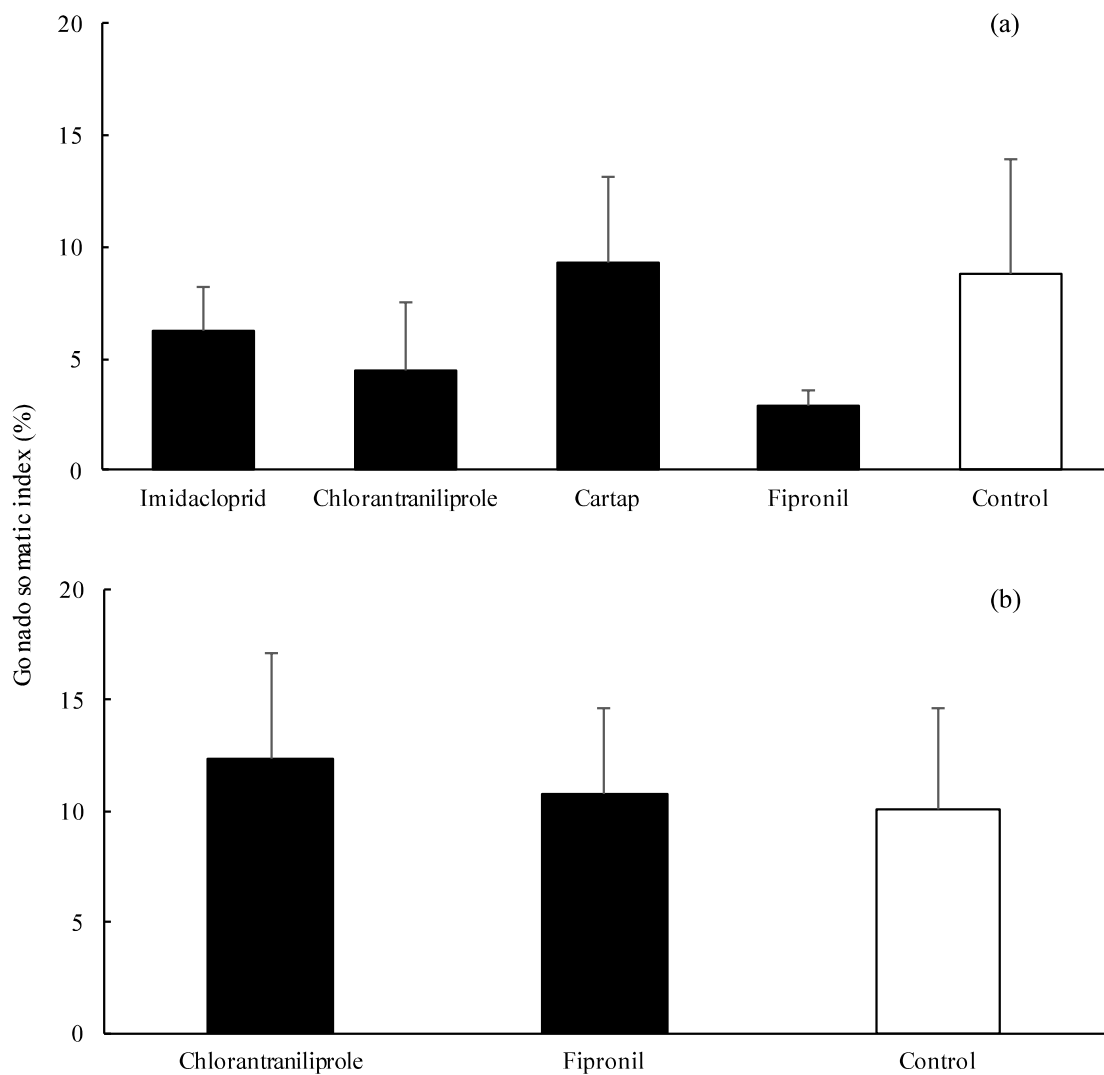


Fig. 3-7 放流 8 週目における雌個体の生殖腺指数の比較

Comparison of the Gonado somatic index of female loaches *Misgurnus anguillicaudatus* between the before experiment and eight weeks after (a: 2014, unfed, b: 2015, fed *Altemia* sp. Open bars, Date of outside of loaches from Fujimoto (2008). Error bars indicate standard Deviation.)



### 2.4.2 生殖腺未発達の要因

2014年に実施したマイクロコスム試験では、魚毒性C類のフィプロニル処理区でドジョウの雌の生殖腺指数は最も低い値を示した。一般的に、生殖腺指数の減少は産卵に伴い生じる。また、フィプロニル処理区を含む全ての条件下では当歳魚が確認および採捕されていないことから、GSIの低下は産卵が原因ではないと考えられる。そのため、フィプロニルの施用はドジョウの性成熟の遅延あるいは不全を招く可能性があり、ドジョウの個体数減少の一因の恐れがあると考えられる。

2015年では、マイクロコスム試験のすべての条件下でブラインシュリンプを給餌した。放流8週目の雌個体の生殖腺指数は、クロラントラニプロールとフィプロニル処理区ともに、コントロール区と比べて有意な差は確認されなかった。このことから、今後はドジョウの性成熟の阻害の原因が、薬剤施用による直接的な影響か、ドジョウの餌資源を介した間接的な影響なのか農薬濃度の動態調査と平行して実験を行い、明らかにする必要がある。そのためには、十分な餌資源環境下において、ドジョウに対する薬剤の直接的な影響の観察が必要となる。

### 2.4.3 給餌と肥満度

肥満度の低下は、一般的に運動や代謝によるエネルギー消費量の増加や食物からのエネルギー摂取量の減少である。2014年では、放流2週目から全処理区で、試験前との肥満度に有意な差が確認されるようになった。しかし、ブラインシュリンプを給餌した2015年では、試験前と放流4週間目の肥満度を比較したところ、各処理区における放流前と放流4週目の肥満度には有意な差が確認されなかった。ただし、放流8週目になると、全処理区の肥満度が放流前と比較し、低下したことが確認された。このことから、肥満度の低下は、最短で放流4週目以降から8週目にかけて発生したと考えられる。

生物の呼吸代謝には $Q_{10}$ の法則が知られており、これは、 $10^{\circ}\text{C}$ の温度上昇で呼吸代謝が2倍となる法則である(鈴木ら, 2013<sup>3-22</sup>)。つまり、2014年は6月にかけては水温変動が比較的低いいため、ドジョウの代謝は低く抑えられたと考えられるが、放流2週目から肥満度の低下が確認された。しかし、2015年には、前年と比べて、6月中に日変動が $\pm 10^{\circ}\text{C}$ 以上の日も確認されており、代謝量が前年よりも高かったことが想定される。そのような中、ブラインシュリンプ給餌下では、6月17日の放流4週目まではエネルギー消費量に対して十分な餌環境が提供出来ていたことが考えられる。以上により、ブラインシュリンプは、ドジョウの餌資源としては有効であるとともに、給餌した場合は無給餌と比較し、最短でも3週間は肥満度を維持させることが可能であった。

長野・片山(2015<sup>3-23</sup>)は、マダイ(*Pagrus major*)が餌条件の悪化により十分な栄養状態が確保されず、肥満度が低下し、成熟サイズが十分でない場合、成熟機能が未発達となる現象は、硬骨魚類では、他にもカタクチイワシ(松田ら, 2014)が餌料の栄養価によって、卵黄蓄積が遅れ、産卵量に影響することが報告されている。2014年のマイクロコスム試験において、イミダクロブ

リド、クロラントラニリプロール、フィプロニル処理区で確認された雌個体の GSI の未発達の一つの要因として、餌資源の不足によるものである可能性が示唆された。

### 第 3 節 実験圃場におけるマクロコスム試験

#### 3.1 研究の課題

実験生態系を用いた生態毒性試験では、規模が大きくなることにより緩衝性が高まる。そのため、マクロコスム試験の大きな特徴の一つとして、実際の水田環境に近い結果が得られることが可能となる。ここでは、第 2 節で実施したマイクロコスム試験での試験条件を揃えて、マクロコスム試験を実施することにより、育苗箱施用殺虫剤がドジョウに及ぼす影響を、より実水田に近い結果として得ることを目的として実施した。

#### 3.2 研究方法

##### 3.2.1 試験系の作成

本試験は、マイクロコスム試験との比較として取り扱い、2014 年は、ライシメータ装置の充填土壌に用いた過去 6 年間農薬成分が施用されていない実験圃場の 1 筆 (Fig. 3-8, 136m<sup>2</sup>) へドジョウを粗放流して、8 週間の観察試験を実施した。栽培管理は Table 3-5 に示した通りであり、5 月 24 日に田植えの後、同日中に平均体長 67.0±6.5 mm (44.0~86.0mm) のドジョウを 230 尾放流した (Table 3-5, 密度: 1.7 尾/m<sup>2</sup>)。ドジョウを放流後、実験圃場全体に防鳥ネットを張り、ドジョウが鳥害被害を受けないように工夫した。加えて、水尻の排水口には金網 (目合 5mm) を設け、供試魚が野外に流出しないように努めた。

2015 年は、薬剤による影響を評価するために、クロラントラニリプロールとフィプロニルの 2 剤を試験薬剤に選定し、影響の比較対象区としてコントロール区を設けた計 3 条件で実施した。コントロール区には、昨年のマクロコスム試験に使用された圃場を再び使用した。各条件の実験圃場は、条件毎に独立した圃場であり、各水田は隣り合わせにならないように試験区を用意した。各条件下には、畦波シート (高さ 30cm) で作成したドジョウ放流区画 (面積=1m<sup>2</sup>) を 5 つ設けた。ただし、フィプロニル区は、試験圃場を使用する都合上、放流区画は 4 つとなった。また、放流区画の側面には金網 (目合 5 mm) による幅 15cm の開口部を設けて、区画の内と外の田面水の移動が圃場の水管理と同様になるようにした。ドジョウの放流尾数は、同時期に並行して実施したマイクロコスム試験と生息密度が同一になる様にして、1 区画あたりにドジョウを 22 尾放流した。また、ドジョウの放流後は、放流区画の上部にのみ防鳥ネットを設けた。

##### 3.2.2 水温計測

実験期間中における実験圃場の水温の変動を把握するために、2014 年と 2015 年のライシメー

Table 3・5 マクロコスム試験の栽培管理  
 Experimental cultivation managements in macorocosm experiments

Cultivation management	Year	
	2014	2015
	No insecticide treatment	Chlorantraniliprole, Fipronil, Control
Seeding variety	<i>Hitomebore</i>	
Plant cultivation density	22 hills / m <sup>2</sup>	
Weeding	Handwork	
Tilling	May 13	May 7
Irrigation	May 16	May 12
Pudding and leveling	May 17	May 12
Transplanting rice seedlings	May 24	May 15, 17
Releasing loaches	May 24	May 15, 17



Fig. 3-8 実験圃場試験の外観

Outlines of macrocosm experiments (a: Experimental paddy field in 2014, b: Square frames in the experimental paddy field in 2015)

タに水温データロガー（HOBO 64K Pendant, Onset, マサチューセッツ）を使用して1時間毎の水温を計測した。設置の際には、センサ部を水中に浸け、水田土壌の表面部付近に位置するようにした。2015年は、フィプロニル区ではドジョウ放流の5月15日から、クロラントラニプロールとコントロール区はドジョウ放流の5月17日から、それぞれ5月24日までの期間、データロガーの交換のために、水温記録の欠損が生じた。これらの欠損値を補うために、マイクロコスム試験同様に、仙台管区气象台（仙台市宮城野区）の観測データから気温の特別値を引用し、計測値と観測値の近似式ならびに相関係数を求め、気温の観測から実験圃場の水田水温へと欠損値の代入を行った。

### 3.2.3 供試魚の選定

2014年と2015年の供試個体の詳細はTable 3-6に示す通りである。マイクロコスム試験の供試個体と同様に、大分県で地下水養殖のドジョウを使用し、同じ個体群から個体を選定している。

2014年は体長 $67.0 \pm 6.5\text{mm}$ の個体を使用した。2015年には、繁殖に寄与する成魚に対する薬剤の影響を調べるために、 $79.5 \pm 6.5\text{mm}$ の個体を使用した。順化期間における死亡個体が確認されないことから、2015年の順化期間は、最短で1日、最長でも3日として、試験に使用した。

### 3.2.4 薬剤の選定

2015年は、苗品種はひとめぼれ、栽植密度は一般的な $22\text{株}/\text{m}^2$ を採用した。薬剤の散布量は育苗箱1箱当たり50gの散布量に従い、実験圃場試験は用法に準拠した。ライシメータ試験の薬剤散布量は、1株あたり0.039gと定めた。マイクロコスム試験と同様に、2015年には使用薬剤として、クロラントラニプロールとフィプロニルの2剤を選定した。条件として薬剤2剤と薬剤を施用しないコントロール区を加えた、計3条件を設けて、それぞれの圃場に5反復で実施をした。薬剤散布から、24時間後、72時間後、7日後、30日後に、柄杓（ステンレス製）を用いて、薬剤処理区の田面水を採水した。採水の際には、水田の畦畔から4箇所、水田中心の1箇所から柄杓で約200mlを掬い取り、合計1Lの田面水を1L遮光瓶（アズワン）へと移して、冷暗所にて保管後、各水試料は、以下の専門業者へ分析依頼をした。クロラントニリプロールは、（日本エコテックス㈱、福島県）によりLC-MS/MS法で分析を実施した。フィプロニルは、（㈱環境公害研究センター（石川県）でGC/MS法で分析を実施した。

### 3.2.5 ドジョウの採捕方法

ドジョウの採捕は2014年ならびに2015年は、2回実施した。2014年には、放流4週目と8週目に実施した。2015年には、放流6週目に採捕を実施した。採捕には口内径2.5cmのペットボトル製トラップの中に練り餌（さなぎ粉徳用、マルキュー）をお茶パックの中に入れて使用した。トラップの設置と回収は、1日朝夕の2回として、それぞれの採捕の際に餌の入れ替えをした。ドジョウを採捕後には、個体の体長と体重を計測し、採捕終了までは、宮城大学の水利実験

Table 3-6 マクロコスム試験における供試個体  
Property of test body in macorocosm experiments

Properties	Year	
	2014 (136 m <sup>2</sup> )	2015 (1 m <sup>2</sup> )
Method of marking fish	- Unfed	- Fed
Acclimation period (days)	10	1, 3
Number of release	230	22
Density (N / m <sup>2</sup> )	1.7	22.0
Body length (Mean SL ± SD)	67.0 ± 6.5	79.5 ± 6.5

棟内で管理をした。放流 4 週目の採捕調査終了後には採捕個体を速やかに元の試験区に戻した。放流 8 週間後に採捕された個体は、4-アミノ安息香酸で麻酔後、生殖腺を摘出し、生殖腺重量を計測した (CP2245, Sartorius 社)。また、試験下におけるドジョウの産卵の有無を確認するため、目視による稚魚の確認調査を、放流 8 週目、6 週目の最終採捕から 4 週間実施した。

### 3.2.6 試験系における給餌環境の工夫

2015 年に実施したマイクロコスム試験では、人為的にブラインシュリンプを与えた。一方で、マクロコスム試験では、ドジョウの放流区画 (面積=1m<sup>2</sup>) の側面に、金網 (目合 5 mm) を用いて幅 15cm の開口部を設けてあり、区画内と外の田面水の移動を可能とした。これにより、区画外からドジョウの餌資源であるミジンコ類が区画内へ侵入できるように工夫した。

### 3.2.7 評価方法

評価方法は、「2.2.6 評価方法」と同様に実施し、各検定には、R (version 3.3.2) を使用した。

## 3.3 結果

### 3.3.1 水温動態

試験期間に計測された水温と仙台管区气象台で観測された 1 時間ごとの温度を基に推定された関係式は次のとおりであった。

$$WTt = 7.4887e^{0.055t} \quad R^2 = 0.64559$$

$t$  : 仙台管区气象台の 1 時間毎の気温 (°C),  $WTt$  : 気温  $t$  の時の水温 (°C)。

実験圃場における水温の動態を **Fig. 3-9** に示す。2015 年は、各条件共に日変動が ±10°C 以上の日にちが 15 日確認されて、特に、5 月下旬から 6 月上旬までが顕著であった。

また、3 条件のうち、クロラントラニプロール区の数値が高かった。これは、クロラントラニプロール区の圃場に設置されたデータロガーが時折、田面水から露出していることが確認された。これはおそらく、この圃場の均平精度が悪いため、ロガーの設置箇所が隆起して、水温と気温が記録に反映されたためと考えられる。ただし、試験期間中は、クロラントラニプロールの放流区画は常に湛水状況が保たれていたことを確認している。

### 3.3.2 農薬濃度動態

マクロコスム試験で確認されたクロラントラニプロールとフィプロニルの濃度動態を **Fig. 3-10** に示す。クロラントラニプロールは、施用から 1 日目 (24 時間後) は 23.0µg/L を示し、これが試験期間における極大値となった。施用から 3 日目には濃度は 9.4µg/L となり、最大濃度の半分以下をなった。施用 7 日目においては 4.9µg/L を示し、施用 30 日目には濃度は検出限界 (0.01µg/L 未満) となった。フィプロニルについては、施用から 1 日目で、1.5µg/L、施用 3 日

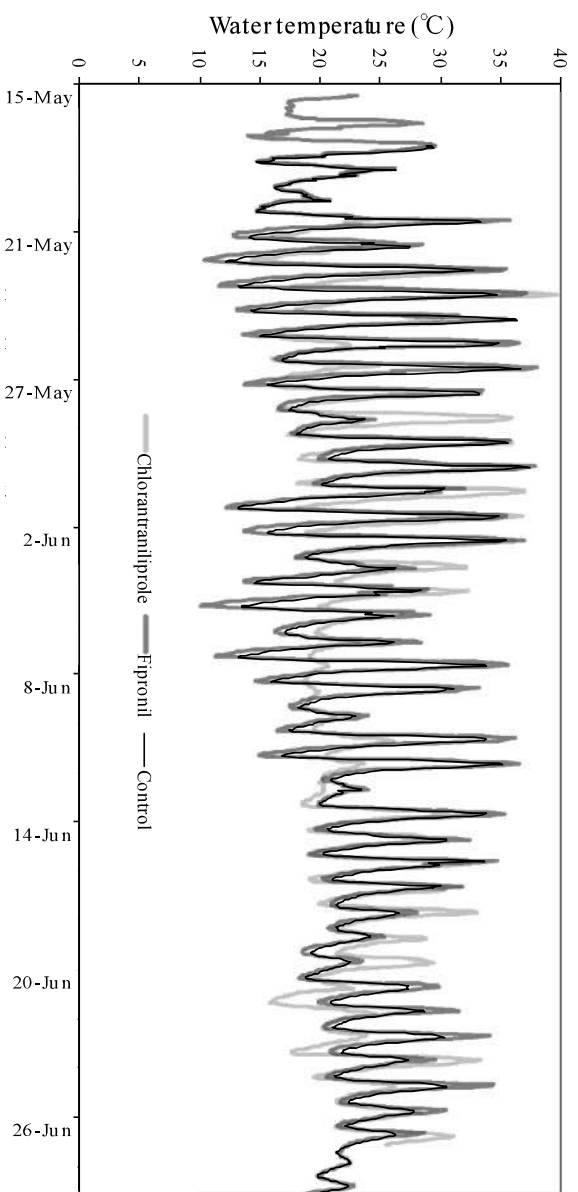


Fig. 3-9 マクロコスム試験における水温動態  
Water temperature at the macrocosm experiments



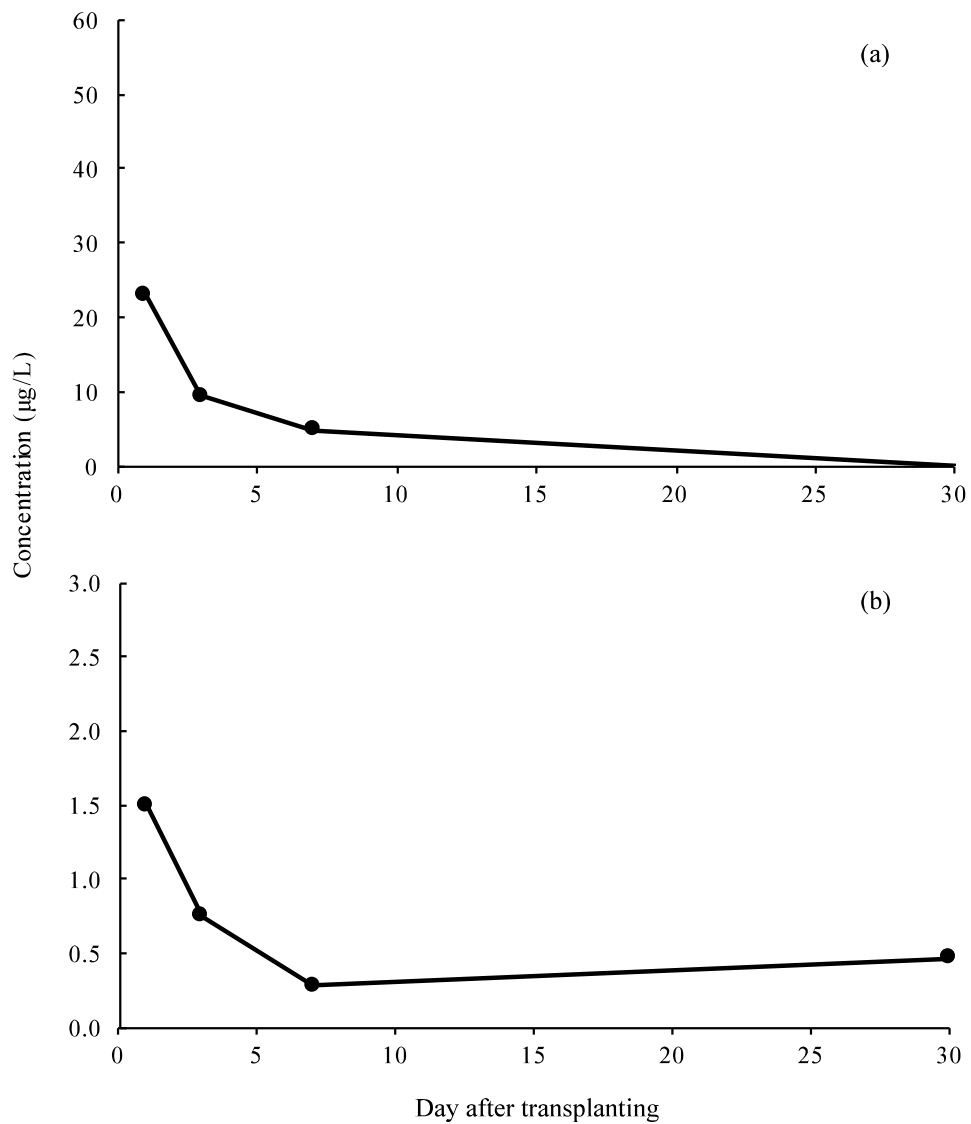


Fig. 3-10 マクロコスモ試験における農薬濃度動態

Environmental fate of (a) chlorantraniliprole and (b) fipronil in water of macrocosm experiments (Error bars indicate standard deviation)

目では 0.8µg/L を示した。施用から 7 日目で 0.3µg/L となり、試験期間中における極大値となった。施用から 30 日目においては 0.5µg/L を示し、わずかであるが濃度が上昇した。

いずれの薬剤においても、施用から約 3 日程度で濃度がピーク時の半分となった。

### 3.3.3 斃死

2015 年における調査期間におけるドジョウの斃死個体は、いずれの薬剤処理区においては確認されなかった。しかし、2014 年にはペットボトルトラップ内に、ドジョウ以外にもアマガエル幼生やアカハライモリが混入し、生体によってトラップに設置された空気穴を塞いでしまい、窒息が原因と考えられる死亡個体が合計 26 尾発生した。一方で、2015 年は、放流区画内に設置されたトラップ内では、同様の現象は発生せず、トラップ内に死亡個体は発生しなかった。

### 3.3.4 肥満度

2014 年および 2015 年のマクロコスム試験における、放流前と放流 4 週間後のドジョウの肥満度を Fig. 3-11 に示す。2014 年のコントロール区は、放流前の肥満度が  $10.3 \pm 1.7$  であったが、放流 4 週目には  $9.0 \pm 1.2$  を示した。2015 年は、コントロール区において放流前の肥満度が  $8.8 \pm 0.9$  であり、放流 4 週目では  $9.0 \pm 1.1$  を示した。薬剤処理区として、クロラントラニプロール区では、放流前と放流 4 週目ともに肥満度は  $9.0 \pm 1.2$  を示した。続いて、フィプロニル区では、放流前が  $8.7 \pm 1.3$ 、放流 4 週目では  $8.1 \pm 0.9$  を示した。各条件における放流前と放流 4 週目の肥満度を比較したところ、2014 年と 2015 年のコントロール区 (Student's t-test,  $P < 0.01$ ) と 2015 年のフィプロニル区 (Welch's t-test, t 値 : 3.09,  $P < 0.01$ ) において、肥満度が有意に低下していることが確認された。一方で、クロラントラニプロール区では有意な差は確認されなかった (Student's t-test, t 値 : 0.14,  $P > 0.05$ )。

続いて、放流 4 週目における各薬剤処理区の肥満度をコントロール区と比較したところ、クロラントラニプロールはコントロール区に比べて有意に高いことが確認された (Dunnnett, t 値 : 3.73,  $P < 0.01$ )。フィプロニル区は有意な差が確認されなかった (Dunnnett, t 値 : 0.95,  $P > 0.05$ )。放流 6 週目になると、肥満度は、コントロール区において  $7.2 \pm 0.9$  を示し、薬剤処理区であるクロラントラニプロール区は  $7.7 \pm 0.9$ 、フィプロニル区では  $7.6 \pm 1.0$  を示した。放流 6 週目になるとコントロール区の肥満度は、クロラントラニプロール区 (Dunnnett, t 値 : 3.55,  $P < 0.01$ ) およびフィプロニル区 (Dunnnett, t 値 : 3.03,  $P < 0.01$ ) の肥満度よりも有意に低いことが確認された。

### 3.3.5 生殖腺指数

各年度における雌ドジョウの生殖腺指数を Fig. 3-12 に示す。2014 年の放流 8 週目の雌ドジョウの生殖腺指数は  $6.4 \pm 5.1$  であった。2015 年の放流 6 週間後のドジョウの生殖腺指数は、コントロール区では  $8.3 \pm 4.6$  を示し、薬剤処理区であるクロラントラニプロール区、フィプロニル

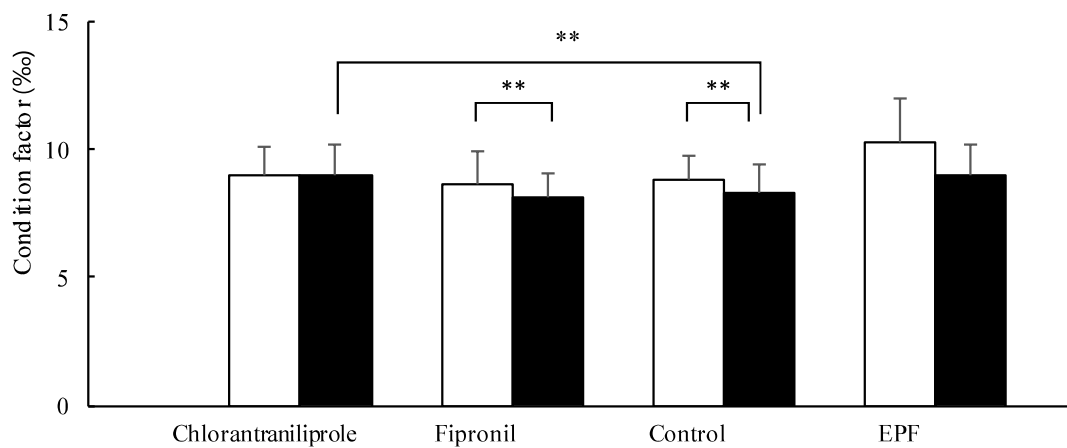


Fig. 3-11 放流 4 週目における肥満度の比較

Condition factor (*CF*) of *Misgurnus anguillicaudatus* after four weeks from the releasing (EPF: Experimental paddy field in 2014. Open bars, before releasing; closed bars, four weeks after. Error bars indicate standard deviation. \*\* denote significant differences ( $P < 0.01$ ))

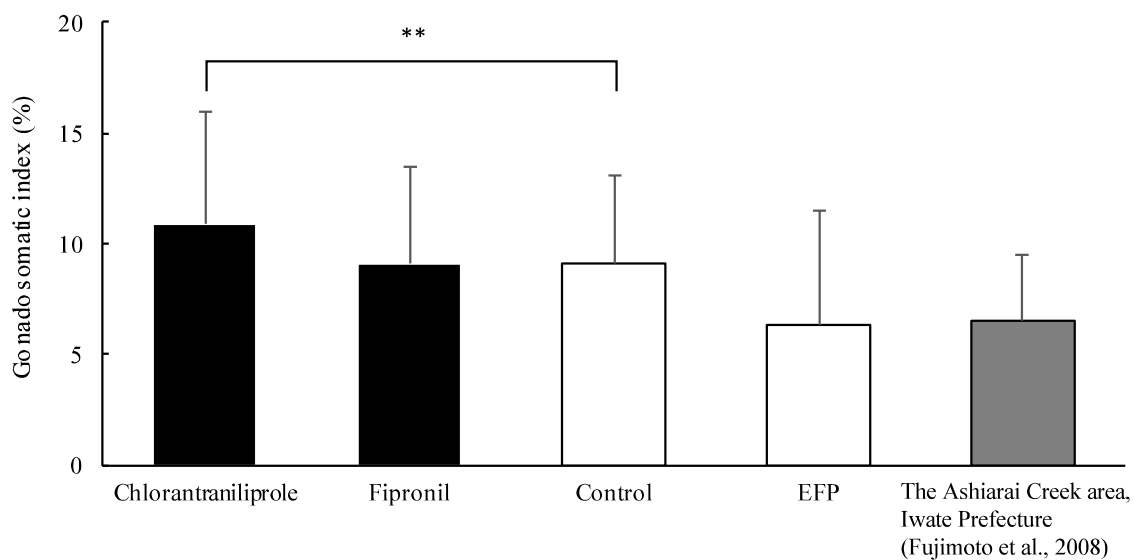


Fig. 3-12 放流 8 週目における雌個体の生殖腺指数の比較

Comparison of the Gonado somatic index of female loaches *Misgurnus anguillicaudatus* between the before experiment and eight weeks after (EFP: Experimental paddy field in 2014. Closed bars, insecticide application; open bars, no insecticide; shaded bars, previous study. Error bars indicate standard Deviation. \*\* denote significant differences ( $P < 0.01$ ))

区ではそれぞれ  $9.1 \pm 6.2$ ,  $8.3 \pm 4.9$  を示した。そのうち、クロラントラニリプロール区の生殖腺指数はコントロール区よりも有意に高いことが示された (Dunnett, t 値: 12.04,  $P > 0.01$ )。

試験下におけるドジョウの稚魚は、2014 年に実施した実験圃場において、放流 8 週目の採捕調査のトラップ内で、体長 30mm の稚魚が 1 尾確認された。一方で、2015 年は放流区画内では、採捕と目視による観察では、稚魚は確認されなかった。

### 3.4 考察

#### 3.4.1 育苗箱施用殺虫剤 2 剤の農薬濃度動態とドジョウへの致死性

調査期間中、クロラントラニリプロールならびにフィプロニル処理下において、斃死個体は確認されなかった。このことから、上記の育苗箱施用殺虫剤の 2 剤に対して、ドジョウの成魚 (体長 80mm 以上) への致死性は低いものと考えられる。

#### 3.4.2 給餌と肥満度

2015 年では放流 4 週目の時点で、コントロール区とフィプロニル区の各肥満度は、放流前と比べて、低下していることが確認された。一方で、クロラントラニリプロール区の個体の肥満度は、4 週目では放流前と同程度であり、低下は確認されなかったものの、6 週目になると、放流前よりも低下していることが確認された。このことから、放流 6 週目になると、コントロール区の肥満度が最も低くなった。このコントロール区の肥満度の低下の要因の一つとしては、2014 年に実験圃場のコントロール区で産卵が確認されていることから、産卵に伴う生殖腺重量の低下で生じたものと考えられる。

#### 3.4.3 生殖腺発達の要因

クロラントラニリプロール区の肥満度と生殖腺指数の値が最も高いことが示された。しかし、確認された当歳魚は、2014 年の実験圃場のコントロール区においてのみであり、放流 8 週目にペットボトルトラップ内で採捕された。確認されない要因としては、トラップに設けてある空気穴 (直径: 5mm) やペットボトルの口 (口径: 2.5cm) をすり抜けてしまっていた可能性もある。そこで、仮に試験区で稚魚が生息していても、体長約 3cm 未満の個体は、評価できなかったとも考えられる。

ただ、2014 年の実験圃場試験における雌の生殖腺指数の  $6.4 \pm 5.1$  は産卵に伴う値であると考えられる。また、この値は、Fujimoto ら (2008<sup>3,25</sup>) が示した野生個体の同時期における産卵期間中の雌の値とも同じである。一方で未成魚を対象とし、ライシメータ装置を用いたマイクロコスモ試験では、産卵は確認できなかった。そのため、本種に対する育苗箱施用殺虫剤の曝露期間は産卵期である 5 月上旬から 7 月上旬である。そのため、試験期間中におけるドジョウの餌資源の存在量の推移を、薬剤条件を変化させて評価する必要がある。また、試験年度を 2 年に渡って

実施することよりも、一度に同一の条件下で未成魚と成魚を用いて試験を行うことが望ましく、異なる試験系における実験も必要である。他にも、体長の違いによる薬剤の影響評価や、致死以外の影響である亜致死影響の評価も必要である。

### 3.5 小括

2014年のマイクロコスム試験において、イミダクロプリド、クロラントラニリプロール、フィプロニル処理区で確認された雌個体の生殖腺の未発達の要因として、餌資源の不足によるものである可能性が示唆された。そのため、今後は、ドジョウの餌資源の存在量を踏まえた評価が必要である。

## 第4章 亜致死影響の評価と評価手法の検討

### 第1節 本章の目的および研究における位置

ドジョウは食用や鳥類の餌料、水田や水路等の水域ネットワークの健全性の評価種として扱われている。これまでに、第2章では、ドジョウは未成魚が水田土壤中に越冬しており、田植えの際には育苗箱施用殺虫剤に曝露される可能性があることを示した。第3章では、未成魚のドジョウを育苗箱施用殺虫剤の4剤に供して、ドジョウの致死性や肥満度と生殖腺指数（GSI, Gonadosomatic index）から影響評価を実施した。化学物質が生物に及ぼす影響の中で、最も強い作用が致死であるが、薬剤による斃死個体は確認されなかった。一方で亜致死影響として、肥満度ならびに GSI を指標として影響評価を試みたところ、平均体長 64mm の個体では、コントロール区と比較し、クロラントラニリプロール、フィプロニル、イミダクロプリド処理区では成熟度合いが低下傾向を示した。ただし、亜致死影響のメカニズムについては解明できておらず、そのためには、例えばドジョウの餌資源量の定量的な調査が必要と考えられる。また、ドジョウは水の移動を介して、水田と水路を行き来する種である。薬剤がドジョウに及ぼす他の作用として、生理学的、生化学的変化に伴う挙動や遊泳阻害を観察し、作用様式を知る必要がある。

以上から本章では、①育苗箱施用殺虫剤がドジョウに及ぼす亜致死影響の評価と、②実験生態系のメソコスム試験を用いて、薬剤がドジョウや水生生物群集に対する影響について明らかにする目的として、亜致死影響の評価を実施し、その結果と評価手法について検討をした。

### 第2節 円形水槽を用いた生態毒性評価試験

#### 2.1 研究の課題

育苗箱施用殺虫剤がドジョウに及ぼす亜致死影響を評価するにあたり、まずは、挙動の観察をして作用様式をグループ化し、特徴的挙動や形態学的レスポンスをまとめる必要がある。そこで対照区として、飼育水によるドジョウの 96 時間観察試験を実施し、挙動のレスポンスを観察した。その作用様式に基づき、ドジョウに対して薬剤成分とその濃度の違いから影響評価をすることが課題である。

育苗箱施用殺虫剤の亜致死影響を調べるために、ネオニコチノイド系殺虫剤のイミダクロプリドとフェニルピラゾール系殺虫剤のフィプロニルの 2 剤について、96 時間の急性毒性試験を実施した。試験期間中に挙動の観察を実施し、毒性試験後に遊泳試験を行って遊泳能力についても評価を行った。

## 2.2 研究の方法

### 2.2.1 96 時間観察試験

試験の様子を図 4-1 に示す。各試験には、円形ガラス水槽（φ 20cm×12cm，貯水量：4L）を使用し、室内温度が 20℃に設定された恒温室内で実施した。光源には LED 基盤の光源フレーム（MIL-V200, Panasonic）を用いて、各水槽の底面が照度 2,500Lux を確保できるように配置した。明暗条件は、16 時間明，8 時間暗の光周期とした。挙動の作用様式をグループ化をするにあたり、まずはコントロール区として水道水を活性炭濾過処理した飼育水を用いて、96 時間の観察を実施した。使用する飼育水は、24 時間以上の曝気を施したのちに遮光瓶に入れており、使用する 12 時間前から試験環境に用意したものを使用した。

対照区として、飼育水によるドジョウの 96 時間を実施し、挙動のレスポンスを観察した。期間中は止水式とし、24 時間毎に試験水の更新をした。観察する際は、恒温室入室後 10 分間は静止したままで待機し、振動等の刺激を与えないように配慮しつつ観察を行った。観察のタイミングは、試験開始の 8，24，48，72，96 時間後の計 5 回とした。

### 2.2.2 96 時間急性毒性試験

試験薬剤はイミダクロプリド（和光純薬工業）とフィプロニル（和光純薬工業）の標準品を使用した。それぞれを溶媒助剤のアセトン（和光純薬工業）に加えてアセトン溶液（1mg/mL）とし、それを飼育水に添加されて攪拌させて、各薬剤の濃度区を生成した。濃度勾配は公比 10 とし、最大濃度 1000µg/L から 0.01µg/L までの範囲で実施した。明時間を 16 時間とし、午前 8 時に照明が点灯するようにした。

### 2.2.3 遊泳試験

96 時間の曝露試験終了後には、遊泳障害の判断指標を求めるために遊泳試験を実施した。試験系を Fig.4-1 に示す。遊泳試験は、円形水槽をマグネティックスターラー（SRS311AA, Advantec；以下、スターラーとする）に設置して、水槽の中心部に攪拌子（オクタゴン回転子，アズワン）を設置した。スターラーには回転数の調節つまみが 6 段階設けられており、調節つまみで出力を最小の状態と電源を入れるとわずかに攪拌子が動き始める。この状態を段階 0 として扱った。試験では、段階 0 から円形水槽内の攪拌子の回転数を徐々に上げていった。各段階 3 分間を設けて、攪拌によって生じさせた流れにおける反応を観察した。遊泳の様子はビデオカメラ（機種追記, Panasonic；Eos kiss x4, Canon；1920×1080, 30 fps）にて撮影後、研究室内で解析した。

そして得られた観察の結果と既存の魚類を用いた毒性の作用様式に関する報告（久保田ら，1957<sup>4</sup>；若林，2003<sup>4</sup>）を参考にして、作用様式のグループ化を行った。



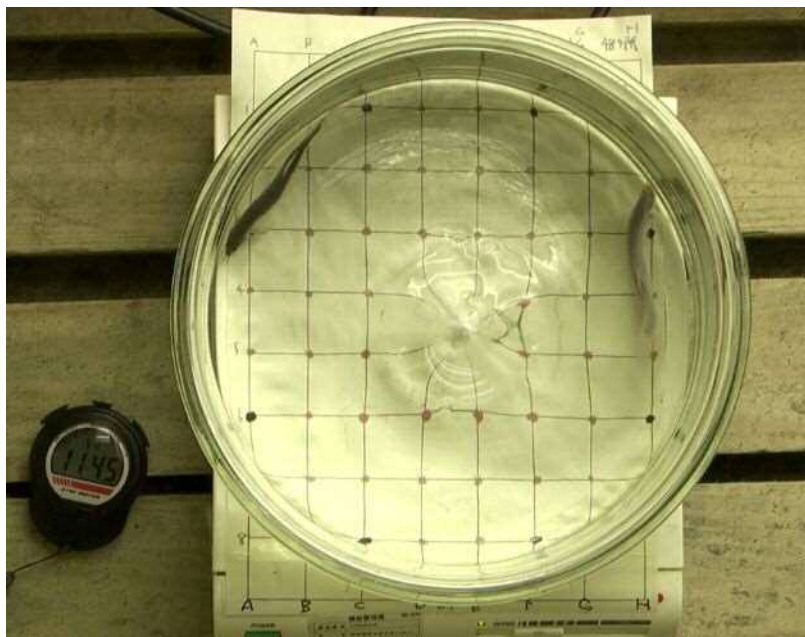
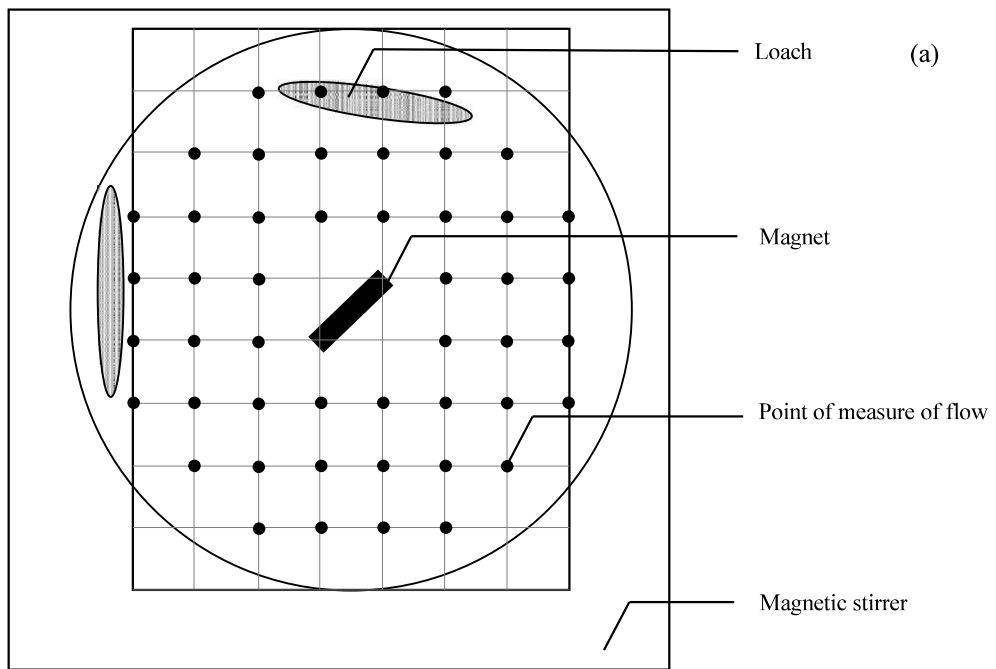


Fig. 4-1 遊泳試験の概要

Experimental apparatus of swimming ability of loach (a: Outlines of experiment, b: The upper view of the vessel)

## 2.2.4 水槽内の流速分布

攪拌機における、各段階の円形水槽内の流速分布については、スターラー上に格子状に3cmメッシュ（縦8本、横8本）で区切った紙を設置して、その上に円形水槽載せて紙を挟むことにより、円形水槽底面に交点が計48箇所を設けた。これら交点における流速について、2次軸電磁式流速計（本体：SF-2012；検出部：SFT-200-05，東京計測）を用いて計測を行った（図1）。計測した水は、フィプロニルは10 $\mu$ g/Lならびに1.0 $\mu$ g/L，対照区として飼育水を用いた。

## 2.3 供試魚の選定

供試個体には同じ個体群のドジョウを選定して試験に用いた。ドジョウの入手は、第3章で用いた供試個体と同様に、大分県で地下水養殖された個体を取り寄せて使用した。1台の円形水槽に対して、2尾ずつ放流をした。順化については、OECDのテストガイドラインTG203魚類急性毒性試験の方法に基づいて行った。すなわち、試験開始の9日前から試験で使用する水質の水で飼育した。順化開始の2日間は安定期間として給餌は行わず、3日目から試験開始の前日（24時間前）までは1日に1度、給餌（川魚のエサ，キョーリン）をした。順化期間中は、エアレーションを施し、明暗条件は試験と同じとした。順化期間中における死亡個体は発生しなかった。

## 2.4 亜致死影響の定義

### 2.4.1 屈曲

久保田（1957<sup>41</sup>）によると、ドジョウを農薬数種（BHC，DDT，ホリドール）に曝露させた際に、体を「く」字または「S」字に屈曲させると報告している。例えば、BHCの曝露下では屈曲の状態から横転して腹部を上にして容器底部に静止しているという。

また、若林（2003<sup>42</sup>）は、脊柱の側彎・前彎と呼んでいる。ここでは、腹部を上向き，下向きを問わず、ドジョウの脊柱が屈曲していた場合、これらを総して「屈曲」をして扱うこととする。

### 2.4.2 痙攣・テタニー

生物学辞典（巖佐ら，2013<sup>43</sup>）によると、痙攣とは、全身の多数の骨格筋あるいは数個の骨格筋群が、不随意・非協調的・無秩序に、一斉に収縮する現象である。収縮の表現型にもいくつか種類があり、強縮性痙攣（tetanic convulsion）と持続性痙攣（tonic convulsion）等に区別される。そのうち、強縮性痙攣は、多くの骨格筋が同時に強縮的に収縮するものであり、このときには伸筋の張力が屈筋の張力よりも大きくなり、人間の場合には四肢を伸ばし、顎や背を後ろに反らせた姿勢をとる。そのため、ドジョウに対する「痙攣」としては、全身を収縮させることを指すこととする。

また、若林（2003<sup>42</sup>）によると、鰭などの体の一部で痙攣が生じる小規模の収縮のことをテタニー（tetany）と定義しており、本試験における「テタニー」の定義も同様に扱うこととした。

### 2.4.3 平衡感覚の喪失

魚類の内耳の中では、聴覚とともに平衡感覚を司る。内耳の有毛細胞にシナプスする感覚線維によって内耳神経は構成されており、脳へ前庭感覚と聴覚の情報を伝えている(植松・山本, 2013<sup>4</sup>)。Drummond・Russom(1990<sup>4,5</sup>)は、ファットヘッドミノーを用いた行動観察により、化学物質の曝露時の挙動の1つとして、平衡感覚の喪失を挙げており、魚類は平衡感覚を喪失すると、横転または垂直に漂う。本試験では、横転または垂直に漂った状態が確認された場合、平衡感覚の喪失として扱うこととした。

### 2.4.4 遊泳能力と遊泳阻害

一般に、魚は遊泳する際に、血合筋(赤色筋, dark muscle, red muscle)と普通筋の2種類の筋肉を用いる。血合筋とは酸素供給があれば持続可能であり、一方で、普通筋(白色筋, ordinary muscle, white muscle)は、瞬間的に大きな遊泳能力を発揮するものの持続はしないため、休憩が必要となる。魚類は普段、血合筋のみを使用し、急流の遡上などの緊急時に普通筋を使用する(中村, 1995<sup>4,6</sup>)。

ドジョウの遊泳行動については、これまでに、突進しては休息することが知られおり(鈴木, 2000<sup>4,7</sup>; 大友, 2008<sup>4,8</sup>)、本種の遊泳能力の評価には、連続して泳ぐ巡航速度の算出には適さないと述べている(大友, 2008<sup>4,8</sup>)。そのため、本試験において遊泳能力の評価には、円形水槽内で定位または流れに対して進行出来た場合、その流速に対して遊泳能力を有すると判断することとした。ただし、加藤ら(2005<sup>4,9</sup>)と矢田谷ら(2015<sup>4,10</sup>)によると、ドジョウは体長を問わず、流速が大きくなるほど、遊泳時間と最大遊泳距離が短くなると述べている(大友, 2008<sup>4,8</sup>; 加藤ら 2005<sup>4,9</sup>; 矢田谷ら, 2015<sup>4,10</sup>)。そこで、本試験では、3分間の各遊泳時間のうち、流速を変化させてから1分間までは観察を行わず、1分を経過後から遊泳能力の観察を開始した。そして、流速を変化させるまでの2分間の間に、ドジョウがわずかな距離でも遡上あるいは定位した個体を「遊泳能力あり」、流されたままの個体を「遊泳能力なし」と定義した。ただし、注意すべきことに、遊泳能力を調査した矢田谷ら(2015<sup>4,10</sup>)は、河川水を用いた際に、遊泳意欲を示さずにそのまま下流方向へ流下する個体が確認されて、個体ごとに遊泳意欲にばらつきがあると報告している。薬剤における影響か個体の遊泳意欲によるものか把握するために、まずは、飼育水における「遊泳能力なし」に区分される個体数を把握し、その数から薬剤処理区における遊泳能力の評価を行った。

## 3.3 結果

スターラーで段階的に生じた流速の流速は、最大で6段階(以下、流速段階とする)あるが、流速段階が5以上になると、攪拌子の回転数は上昇し、攪拌子が回転軌道から外れてしまうことが確認された。そこで、流速段階を0から4まで上昇させて遊泳試験は実施した。流速計測は、

円形水槽内の 6 割水深における各流速段階の流速は、**Fig.4-2** に示した通りである。フィプロニルについては、10 $\mu\text{g/L}$  と 1.0 $\mu\text{g/L}$  でも実施したが、薬剤条件の違いによる各流速段階の流速に有意な差は確認されなかった (Dunnett,  $P > 0.05$ )。ここでは、コントロール区である、20 $^{\circ}\text{C}$  の飼育水における計測結果を記す。流速段階 1 では、平均流速が 0.9 $\text{cm/s}$  (最大: 2.5 $\text{cm/s}$ , 最小 0.0 $\text{cm/s}$ ) であり、流速計では、攪拌機周りで流れが検知できない 2 点が存在した。流速段階 2 では、平均流速が 2.9 $\text{cm/s}$  (最大: 5.0 $\text{cm/s}$ , 最小 1.7 $\text{cm/s}$ ) となった。流速段階 3 では平均流速が 4.9 $\text{cm/s}$  (最大: 8.1 $\text{cm/s}$ , 最小 2.7 $\text{cm/s}$ ) を示した。流速段階 4 では、平均流速が 14.0 $\text{cm/s}$  (最大: 27.7 $\text{cm/s}$ , 最小 8.8 $\text{cm/s}$ ) となった。

96 時間急性毒性試験の結果について述べる。試験期間の観察から、ドジョウの挙動として、屈曲、痙攣、平衡感覚の喪失が確認された (**Fig.4-3**)。屈曲は、腹部を底面に向けてあり静止状態から、ガラス棒でドジョウの尾鰭を軽く接触後に発現が確認されて、供試個体は脊柱を屈曲させた。痙攣についても、静止状態のままガラス棒を接触後に発現が確認された。平衡感覚の喪失は、常に腹部を水面へ向けて静止していた。尾鰭をガラス棒で接触させると錐揉み状で水槽内を素早く移動する個体も確認された。

各条件下における挙動の出現と遊泳試験の詳細一覧は **Table4-1** に示した。まず、イミダクロプリド処理区では、1,000 $\mu\text{g/L}$  および 0.01 $\mu\text{g/L}$  で試験を実施したところ、96 時間の試験終了までに斃死個体は発生せずに、全ての供試個体が生存をした。フィプロニル処理区においては、1,000 $\mu\text{g/L}$ , 100 $\mu\text{g/L}$ , 10 $\mu\text{g/L}$  および 0.01 $\mu\text{g/L}$  の濃度区で試験を実施したところ、1,000 $\mu\text{g/L}$  条件のみ、8 時間後から横転したまま、静止していた。ガラス棒を用いて供試個体の尾鰭を軽く触れると体が痙攣することが確認された。48 時間後には全供試個体が腹部を上向きにしたまま、ガラス棒で尾鰭を軽く接触させたが反応は見られず、体が硬直していたため死亡と判断した。また、遊泳能力の確認として、1,000 $\mu\text{g/L}$  条件の個体を、48 時間目の観察終了後に遊泳試験を試みたものの、流速段階 1 から流れてしまい、遊泳能力は示さなかった。フィプロニル処理区では 100 $\mu\text{g/L}$  以下の濃度区は、96 時間経過後も供試個体は全て生存していた。しかし、全個体がガラス棒で尾鰭を接触させると、静止状態から体を丸めつつ痙攣することが確認された。これらの個体は、遊泳試験の流速段階が 4 以上になると、必死に体を動かし、遊泳意欲は示すものの、流速に押し流された。そのため、遊泳能力はなしと判断した。10 $\mu\text{g/L}$  濃度区では、12 尾中、3 尾が 72 時間後から横転し、そのうち 1 尾は、遊泳試験では遊泳能力を示さなかった。0.01 $\mu\text{g/L}$  では全ての個体が静止状態のまま急性毒性試験を経過し、遊泳試験では流速段階 4 まで遊泳能力を有することが示された。

### 3.4 考察

今回、試験に使用したフィプロニルは、フェニルピラゾール骨格を有するフェニルピラゾール系殺虫剤である。作用機構は、神経結合部において、本剤が抑制性神経伝達物質である  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) の作用を阻害させて、結果として、神経興奮の抑制を阻害させることにより、害虫

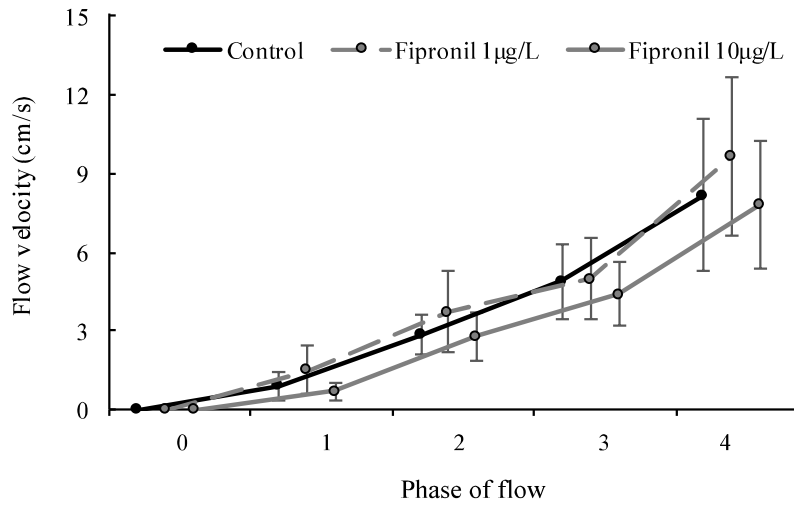


Fig. 4-2 遊泳試験における流速の推移

Phases of flow velocity in swimming ability experiments (Error bars indicate standard deviation)

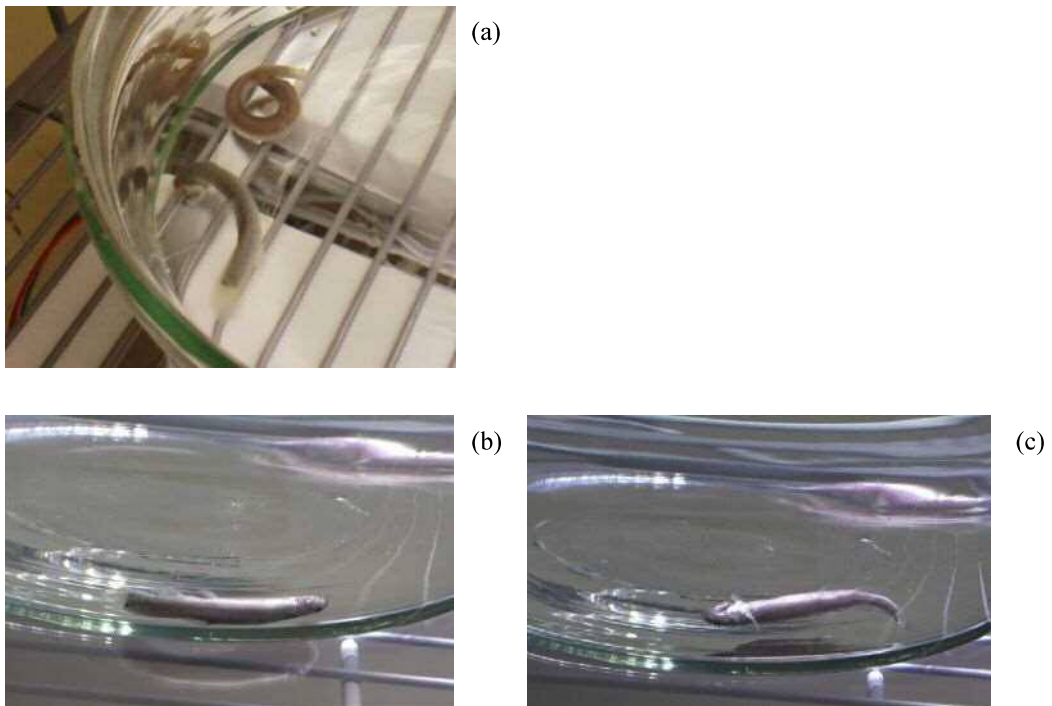


Fig. 4-3 観察されたドジョウの挙動

Behavioral effects for loach in acute toxicity test (a: body flexion, b: convulsion, c: Loss of equilibrium)

Table 4-1 ドジョウに対する 96 時間急性毒性試験と遊泳試験の診断結果

Diagnostic behavioral effects in acute toxicity and swimming ability tests

Insecticides	Concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	Number of individuals ( <i>N</i> )	Acute toxicity test*					Swimming ability test**				
			Time after treatment (h)					Phase of flow				
			8	24	48	72	96	0	1	2	3	4
Control		1	○	○	○	○	c	○	○	○	○	○
		7	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Imidacloprid	1000	1	c	○	○	c	○	○	○	○	○	○
		3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	0.01	1	○	a	a	○	○	○	○	○	○	○
		1	○	○	c	c	c	○	○	○	○	○
		2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Fipronil	1000	2	b,c	b,c	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	○	b,c	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	○	○	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	1	b	b	b	b	○	○	○	○	-	-
		3	○	b	b	b	○	○	○	○	○	-
		1	○	○	c	b	c	○	○	○	-	-
		1	○	○	b	b	○	○	○	○	-	-
		2	○	○	○	b	○	○	○	○	-	-
	10	1	○	○	○	c	c	-	-	-	-	-
		1	○	○	○	c	c	○	○	○	○	○
		1	○	○	○	○	c	○	○	○	○	○
		9	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	1	1	○	a	c	c	○	○	○	○	○	○
		3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	0.01	4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

\* ○ : Stationally (surviving), a : Body flexion ,b : Convulsion/Tetany, c : Loss of equilibrium,- : Dead

\*\* ○ : Swim, - : No swim

が死亡に至る。そのため、フィプロニルの 1,000 $\mu\text{g/L}$  条件の 8 時間後から確認された、痙攣は、フィプロニルの神経伝達の阻害によって、生じたものと推察される。フィプロニルの魚類に対する急性毒性濃度 ( $\text{LC}_{50}$ : 半数致死濃度) は、85~340 $\mu\text{g/L}$  (日本植物防疫協会, 2011<sup>4-11</sup>) であり、これは、本試験の 1,000 $\mu\text{g/L}$  濃度区における致死率に合致し、一方で 100 $\mu\text{g/L}$  濃度区では斃死個体が発生しなかったことから、本剤のドジョウに対する  $\text{LC}_{50}$  は 100 $\mu\text{g/L}$  以上であることが考えられる。しかし、第 3 章におけるマイクロコスム試験ならびにマクロコスム試験で確認された最大濃度が 1.5 $\mu\text{g/L}$  以下である。加えて、既存のフィプロニルの水中最高濃度値は、1 $\mu\text{g/L}$  (Jinguji et al., 2013<sup>4-17</sup>) あるいはそれ未満 (早坂ら, 2013<sup>4-25</sup>) であることから、野外環境中の曝露濃度を考慮すると、フィプロニル施用による致死性は低く、遊泳試験においてもコントロール区と比べても違いは確認されなかった。ただし、急性毒性試験では、4 尾中 1 尾に屈曲と横転による平衡感覚の喪失の個体が確認された。平衡感覚の喪失については、コントロール区においても、1 尾確認された。この時のコントロール区の試験環境は、コントロール区のみで実施しており、薬剤のコンタミネーションは考えられず、そのため、この横転は、ドジョウの生態的行動の一つである可能性もある。

Little・Finger (1990<sup>4-12</sup>) は、 $\text{LC}_{50}$  の僅か 0.7 から 5% の濃度、または長期滴な曝露によって遊泳能力に支障をきたすと報告している。イミダクロプリドの魚類に対する  $\text{LC}_{50}$  は、105,000~211,000 $\mu\text{g/L}$  (日本植物防疫協会, 2011<sup>4-11</sup>) である。加えて、野外環境中の水中の最高濃度は、52.8 $\mu\text{g/L}$  (Jinguji, 2013) および 49~39 $\mu\text{g/L}$  (早坂ら, 2013) であった。本試験の 1,000 $\mu\text{g/L}$  濃度区において、ドジョウの斃死個体が発生しなかったため、本剤はドジョウに対して致死性は低いと推察される。ただし、低濃度である 0.01 $\mu\text{g/L}$  濃度区においても、挙動の確認が観察されたため、幅広い濃度で挙動が観察されることが想定される。遊泳能力に対する薬剤の影響は、すべての個体が流速段階 4 においても遊泳が確認されたため、野外環境中においても遊泳能力に対して影響が少ないことが考えられる。ただし、薬剤が土壌に吸着することで、低濃度かつ長期的に曝露されることによって、挙動を発現し、何らかのドジョウの行動に対して影響を受ける可能性があるため、詳しい観察の実施は必要である。この点については、96 時間以上の例えば 21 日後更なる長期的な評価とバイオアベイラビリティ (bioavailability, 生物学的利用率) による総合的評価も必要と考えられる。バイオアベイラビリティとは、薬剤曝露によって供試個体に取り込まれた薬剤成分が体内作用するかの指標であり、これらの解明が更なる試験手法の開発へ繋がるものであると考えられる。

### 3.5 小括

イミダクロプリドとフィプロニルにおける、96 時間急性毒性試験を実施し、薬剤による、致死だけではなく、ドジョウに対する亜致死影響として、挙動の観察を実施した。その結果、イミダクロプリドでは、0.01 $\mu\text{g/L}$  という低濃度区でも、挙動として、屈曲と平衡感覚の喪失が確認された。一方で、フィプロニルは、100 $\mu\text{g/L}$  濃度区においても致死性はないものの、全ての供試個体で、

屈曲，痙攣，平衡感覚の喪失の 3 つの挙動が確認されて，平均流速 14.0cm/s では，遊泳能力はないものと見なされた．10µg/L 濃度区でも挙動が観察された個体は，遊泳試験では，遊泳能力が確認されなかった．このことから，LC<sub>50</sub> 以下の濃度でも遊泳阻害に影響を与えることが示唆された．



## 第4節 メソコスム(mesocosm)試験によるドジョウと水生生物群集への同時影響評価

### 4.1 研究の課題

生態系は多様な生物が複雑に関係し合っており、系全体として動的に均衡状態に向かって変化する。そのため生態系に対する影響を評価するにあたり、生物間相互作用を捉えつつ、定量することは容易ではない。実験生態系において、メソコスム試験は、その大きさや性質から、マイクロコスム試験とマクロコスム試験の中間に分類されている(第3章 参照)。そのため、メソコスム試験は、群集動態や栄養段階の定量評価の際、操作性に優れ、野外環境に近似させる上では有効と考えられている(高橋, 1993<sup>4-13</sup>; 早坂ら, 2013<sup>4-14</sup>)。

これまでに、本論文の第3章では、野外環境下において、マイクロコスム試験とマクロコスム試験を実施した。その結果、2014年のマイクロコスム試験で確認された薬剤処理区における肥満度の低下や、フィプロニル処理区とクロラントラニプロール処理区における平均生殖腺指数が5未満であり、この値が、放流前の5月時点の成熟度合いであることが確認された。そこで、薬剤による影響評価にメソコスム試験を用いて実施することにより、生殖腺の未発達や、餌資源である動物プランクトンや水生昆虫の存在量と比較し、ドジョウに対する生態毒性評価を行うことが目的である。具体的には、供試魚にドジョウの未成魚(体長50mm以上80mm未満)と成魚(体長80mm以上)をメソコスム試験に使用した。これにより、第3章の課題であった、体の大きさの違いにおける感受性の差異についても評価を試みた。また、土壌吸着性(Koc)が132~310のイミダクロプリドや548~1,720のフィプロニルは、これまでに両剤共に、施用1年以上経過した水田土壌中においても残留していることが明らかになっている(早坂ら, 2013<sup>4-15</sup>)。フィプロニルについては、Sharmaら(2008<sup>4-16</sup>)が粘土質のシルト土壌において、施用から56ヶ月まで残留していることを報告している。また、Chatterjee・Gupta(2010<sup>4-17</sup>)によると、円柱の土壌カラムを用いて、フィプロニル及びフィプロニルの代謝産物であるフィプロニルスルホンとフィプロニルデスルフェニルが土壌表層の5cm以内で約80%が残留する。クロラントラニプロールについても土壌吸着性が100~526(Koc)であり、132~310のイミダクロプリドよりも高い吸着性を有している。Thuyetら(2011<sup>4-18</sup>)は、イミダクロプリドが施用35日以上経過後においても、水田土壌中に50µg/kgが残留していたと報告しており、このことから、クロラントラニプロールにおいても、長期的に土壌中に存在することにより、水生生物群集に対して、影響を及ぼすと懸念される。そこで、薬剤施用から140日間、湛水状態でメソコスム試験を実施し、薬剤成分による長期的な水生生物群集の変化についても評価した。

ここでは、育苗箱施用殺虫剤の主成分をクロラントラニプロールとフィプロニルを施用し、水質の把握のために物理調査として、水温、pH、溶存酸素量、濁度、薬剤成分の濃度動態調査を実施した。また、生物調査としては、ドジョウおよび水生生物群集に対する影響を観察した。

## 4.2 研究方法

### 4.2.1 試験系の作成

メソコス試験の試験装置として、紫外線劣化に強い FRP 製の 300L タンク（以下、試験装置とする。直径 1,000mm×高さ 450mm、面積：0.79m<sup>2</sup>）を選定した。設置場所は、宮城大学の実験圃場（第 3 章 参照）の畦畔に設置をした（Fig. 4-4）。タンク内には、過去 8 年間農薬成分が施用されていない実験圃場の土壌を 75L 充填した後、5 月 17 日に水道水を 150L 投入した。対象の薬剤として、これまでの第 3 章のマイクロコス試験およびマクロコス試験でも使用したクロラントラニプロールとフィプロニルの 2 剤とし、それぞれ低濃度区と高濃度区を用意とした。また、薬剤を投入しない対象区を設け、対象区においても、ドジョウを放流したドジョウ放流区とドジョウを投入しないコントロール区の 2 条件を用意した。それぞれの条件を 2 反復で実施した。

試験頻度について述べる。まずは、タンク内へ水道水を投入してから 3 週間経過後、薬剤成分を投入し、これを 0 日目として扱った。物理調査は、マイナス 14 日目から、0, 1, 3, 7, 14, 28, 56, 84, 112, 及び 140 日後の合計 11 回実施した。生物調査のうち、ドジョウ調査は、28 日目と 56 日目に実施した。水生生物調査は、マイナス 14 日目、14, 28, 56, 84, 112, 及び 140 日後の合計 7 回実施した。水生生物調査で採捕された生物は、現地にて、70%エタノール水溶液と 30%のホルマリン水溶液を用いて固定し、後日、実験室において双眼実体顕微鏡または生物顕微鏡を用いて観察し、同定を行った。

### 4.2.2 供試魚の選定

宮城県仙台市坪沼地域を流れる名取川水系の小河川に生息する野生個体を、ウケを設置して採捕した。採取後は、飼育水による 7 日間の順化を行った後、試験に使用した。放流する 24 時間前に体長と体重を計測後、試験装置 1 台あたり、未成魚を 9 尾、成魚を 5 尾、合計 14 尾（17.7 尾/m<sup>2</sup>）を放流した。また、採捕した河川では、野生個体の生殖腺の成熟を把握するために、5 月と 7 月に採捕を行った。

### 4.2.3 薬剤と曝露濃度の選定・農薬濃度の動態分析

クロラントラニプロールとフィプロニルを試験薬剤とした。また、予め設定した濃度区での影響評価を試みるために、本試験では、薬剤成分は第 3 章で実施した育苗箱の苗施用ではなく、タンクへ薬剤溶液を直接投入して、低濃度区と高濃度区の 2 種類の濃度区を用意して実施をした。本試験における低濃度と高濃度の定義は、Nagai (2015<sup>4-19</sup>) が報告している 2 剤の HC<sub>5</sub> と HC<sub>50</sub> 濃度を採用し、クロラントラニプロールでは、低濃度区を 5.5µg/L、高濃度区を 130µg/L とした。フィプロニルは低濃度区を 0.15µg/L、高濃度区を 3.6µg/L とした。HC とは、影響を



Fig. 4-4 メソコスム試験の概要  
Outlines of mesocosm experimentl

受ける濃度（Hazardous Concentration）を指し、 $HC_5$ および $HC_{50}$ は農薬成分のSSD解析における5%値（5%の種が影響を受ける濃度）、50%値（50%の種が影響を受ける濃度）に相当する濃度である。生態系の持続的から、 $HC_5$ は、無影響濃度として妥当と扱われている（Maltby et al., 2005<sup>4-20</sup>；2009<sup>4-21</sup>）。一方で、 $HC_{50}$ は、暫定的であるが、段階的な影響の判定の目安として使用した。SSDは、種の感受性分布（Species Sensitivity Distribution, SSD）であり、その特徴として、生物種間の感受性差や曝露濃度の変動性を累積確率分布として表し、確率論的影響評価を行うことにより、農薬成分の生物多様性（種の多様性）に対する影響度の指標として見なされ、定量的な影響評価手法の一つとされる。今回、使用した $HC_5$ ならびに $HC_{50}$ は、Nagai（2016<sup>4-19</sup>）のSSD解析結果を反映しており、解析に用いた情報は、(独)農業環境技術研究所（つくば、茨城）の農薬生態毒性データベースである。データベースのうち、生物の分類群別の内訳は、藻類と水草を合わせた一次生産者で476レコード、甲殻類と水生昆虫を合わせた水生節足動物が984レコード、魚類と両生類を合わせた脊椎動物が592レコード、その他（貝類、貧毛類、繊毛虫類、ワムシ類、ヒル類等）が169レコードとなり、総生物種数は216種が含まれている。（農業環境技術研究所, 2016<sup>4-22</sup>）。特に藻類が50種、甲殻類が31種、昆虫が75種、魚類が33種であった。

薬剤溶液の生成方法は、試験装置に投入する水150Lに対して、各薬剤の低濃度と高濃度となるように、以下の手順で生成した。クロラントラニプロールは、クロラントラニプロール標準物質（和光純薬工業）を58,500 $\mu$ gを30mLのアセトンに溶解させた。これを本剤の標準液とし、高濃度区は、標準液25mLを2,475mLの飼育水（水道水を活性炭濾過処理）で希釈し、1L遮光瓶に入れて、1タンクあたりに1Lを投入した。低濃度区では、標準液15mLに33.9mLのアセトンで希釈し、希釈溶液25mLを2,475mLの飼育水で希釈後、これを1タンクあたりに1Lを投入した。フィプロニルは、フィプロニル標準物質（和光純薬工業）を1,350 $\mu$ gを3mLのアセトンに溶解させた。これを本剤の標準液とし、高濃度区は、標準液2.5mLを2,497.5mLの飼育水（水道水を活性炭濾過処理）で希釈し、1タンクあたりに1Lを投入した。低濃度区では、標準液0.1mLに3.5mLのアセトンで希釈後、希釈溶液2.5mLを2,497.5mLの飼育水で希釈して、これを1タンクあたり1L投入した。それぞれを溶媒助剤のアセトン（和光純薬工業）に加えて、アセトン溶液（1mg/mL）とした。

各濃度の溶液をタンクへ投入後、2時間後、1, 3, 7, 14, 28, 56, 84, 112, 及び140日後の合計10回の水と土壌を250mL遮光ボトルへ採取した。土壌の採取には、採泥コア（内径:100mm, 高さ40mm）をそれぞれのタンクごとに用意して、それを使用した。各試料の採取後は、分析依頼で発送するまでマイナス20 $^{\circ}$ Cの冷凍庫内で冷凍保管をした。

水と土壌中の残留濃度の分析は、平成理研（宇都宮、栃木）の認定分析研究所で分析した。クロラントラニプロールとフィプロニルの水および土壌残渣の抽出には、Baskaran（1997<sup>4-23</sup>）にわずかな変更（水試料の抽出とロータリーエバポレーターを用いた土壌試料の濃縮を省略）を加えて実施した。水試料の濾過には、遠心濾過ユニット（Millipore Ultrafree0.20 $\mu$ m, Merck

Millipore Corporation, Darmstadt, Germany) を用いた。濾液を液体クロマトグラフィータンデム質量分析法 (LC-MS/MS ; Xevo-TQ, Waters Corporation, Milford, MA, USA) によって分析した。土壌試料は暗室で空気乾燥させた。すべての抽出は室温で実施した。クロラントラニプロール処理区からの約 10g の土壌試料を、10mL の蒸留水と 10mL のアセトニトリルおよび 4g の NaCl で、往復振盪器 (180rpm, 60 分間) で攪拌しながら抽出した。フィプロニル処理区からの約 10g の土壌試料は、往復振盪器 (180rpm, 60 分) 上で攪拌しながら 10mL のアセトン/水 (90:10, v/v) で抽出した。抽出後、溶液を 3000rpm で 10 分間遠心分離した。濾過後の抽出物 (Millipore Ultrafree0.20µm) を液体クロマトグラフィータンデム質量分析法 (Xevo-TQ) で分析した。各殺虫剤の水および土壌試料における検出限界 (LOD) は、それぞれ 0.001µg/L および 0.06µg/kg であった。

#### 4.2.4 ドジョウ調査

供試魚の放流および薬剤投入から 4 週目と 8 週目の前後 3 日間を採捕期間として、この期間は、試験装置内にペットボトル製トラップを設置して、ドジョウの採捕を行った。餌は練り餌 (九ちゃん, マルキュー) を利用し、練り餌をお茶パックに入れて、1 タンクあたりトラップを 2 つ設置した。トラップの設置と回収は、1 日朝夕 2 回とし、トラップ回収の度に餌を新しいものと入れ替えた。また、トラップ内で確認されたドジョウ以外の水生生物は、再びタンクへ戻した。

採捕された個体は、実験室へ持ち帰り、電子ノギス (CD-15P, Mitsutoyo ; 0.01mm) で体長、電子天秤 (BJ310, Sartorius ; 0.01g) で体重を計測した後、採捕期間が終わるまでは、飼育水で保管をした。試験から 8 週目に採捕された個体に対しては、4-アミノ安息香酸で麻酔後、生殖腺を摘出して、電子天秤 (CP2245, Sartorius) で生殖腺重量を計測した。また、試験期間におけるドジョウの産卵の有無を確認するため、8 週目のドジョウの採捕以後も目視による稚魚の確認調査を 4 週間実施した。

#### 4.2.5 水生生物調査

水生生物調査は、プランクトン調査、水生動物調査、付着動物調査およびベントス調査に細分されている。それぞれの調査の目的と詳細は、以下の通りである。

プランクトン調査は、土壌に含まれる休眠卵から発生するプランクトンを利用して、薬剤がプランクトンに及ぼす影響を把握するために実施した。調査には、500mL ビーカーを用いて試験装置の 2 箇所から採水し、合計 1 L を直径 30cm, メッシュサイズ 250µm のプランクトンネットで濾過した後、サンプル瓶に移した。生物の固定は、現地において実施し、30%濃度まで水で希釈したホルマリン溶液 (以下、ホルマリン溶液とする) を用いた。

水生動物調査は、周辺環境からの自然移入によって形成された群集を利用して、薬剤が比較的大型の動物相に及ぼす影響を調査する目的で実施した。調査には金魚網 (100mm×70mm) を用いて、タンク内の水面から約 15cm までの範囲を対象に、一周、一定の速度で回して掬った。網

の内容物をバットの受けにあけた後、肉眼で確認できる動物種を採取し、サンプル瓶へ移し、70%濃度に水で希釈したエタノール溶液（以下、エタノール溶液とする）で固定した。

付着動物調査は、タンク内に水 150L を投入直後、塩化ビニル板（450mm×120mm）を 2 枚設置しておき、調査の際には、塩化ビニル板をタンクから抜き取った後、バットの受けの上で板の表面に付着している動物をヘラ（ステンレス製、象印）でこそぎ採った。条件を統一するために、藻や動物が付着していない場合でも、板の表面をヘラでこそぎ採る作業は同時に行った。こそぎ採った後は、板を流水で洗浄後、元の場所に挿し直した。採取した生物は、サンプル瓶に移し、ホルマリン溶液で固定した。

ベントス調査は、薬剤が土壌中に生息する生物種に及ぼす影響を調査する目的で実施した。土壌の採取には、農薬動態の調査で使用している採泥コアを使用し、タンク内の土壌を採取して、0.85mm メッシュのふるい（ステンレス製）で流水をかけながら濾し、残った生物をサンプル瓶へ移した。固定にはホルマリン溶液で固定した。

採集された生物は、実験室内で双眼実体顕微鏡（SZ61, Olympus）と生物顕微鏡（CX31, Olympus）を使用して同定を行った。また、同定作業に関して、属まで同定を試みたが、ミジンコ類、トンボ目およびカ科について、外形の特徴による同定が困難な個体が確認されたため、それぞれを sp. として扱い、記録をした。

#### 4.2.6 試験系の管理

試験装置の水管理のために、タンク内に 150L の水を投入後に、水位線をタンク外側に引いた。蒸発散によるタンク内の水消失量を 1 週間に 1 度確認し、適宜水を補った。また、大雨の際には、タンク上部にビニールシートを張ることで、タンク内への雨水の流入を防ぎ、薬剤の希釈を避けるように努めた。

また、なるべく水田環境に近似させるために、試験期間の途中から、タンク内の水深（約 30cm）の湛水条件でも腐食しない大きさとして、草丈 40cm まで実験圃場で栽培したイネ株（品種：ひとめぼれ）を 1 タンクあたり 4 株移植した。イネ株を栽培した実験圃場は、第 3 章のマイクロコスモ試験の充填土壌ならびにマクロコスモ試験に使用した圃場であり、実験当時で 8 年間農薬成分が施用されていない土壌で栽培を行った。

#### 4.2.7 評価方法

第 3 章と同様に、育苗箱施用殺虫剤の影響を、斃死による致死的影响と斃死以外による亜致死的影响から評価を試みた。致死的影响は、以下の式に基づき、致死率により算出した。コントロール区において死亡個体が認められた場合は、次の計算式から補正死亡率を算出した（Abbott, 1925<sup>4,24</sup>）。

$$\text{Corrected \%} = \left[ 1 - \frac{\text{処理区内の生存率 (\%)}}{\text{コントロール区における生存率 (\%)}} \right] \times 100$$

ドジョウの健康度合いと成熟状態を推定するため、供試個体の体長、体重ならびに生殖腺重量から以下の式により、肥満度 (Condition factor; *CF*) と生殖腺指数 (Gonado somatic index; *GSI*) を算出した。

$$CF (\%) = \frac{\text{体重 (g)}}{(\text{標準体長 (cm)})^3} \times 1000$$

$$GSI (\%) = \frac{\text{生殖腺重量 (g)}}{\text{体重 (g)}} \times 100$$

なお、算出された死亡率、肥満度と *GSI* については、値が比率であるため、群間における検定を実施する際には、角変換後の値を *Leven* 検定によって分散性を確認し、等分散が確認された場合は、一元配置分散分析 (ANOVA) を実施し、全体としての有意差を検討した上で、*Dunnnett* 検定を用いて各処理区の検定を行った。肥満度を放流前と放流後とで同じ処理区内で比較・検定する際は、*F* 検定を実施し、分散性に応じて、*Welch* の *t* 検定と *Student* の *t* 検定を使い分けて使用した。これらの各検定には、*R* (version 3.3.2) を用いた。

また、薬剤の群集レベルでの影響を解析する目的として、水生生物調査の結果から、*PRC* (Principal Response Curve) 解析と、*Shannon-Wiener* (*H'*) による多様度指数を用いて評価した。*PRC* 解析とは、多変量解析であり、生物群集の変化を解析する手法である。解析には *R* においてパッケージ *vegan* を使用して解析を行った。

*H'* は以下の式で求められ、種数が多く、かつ各種の均平度が高いほど、値が高くなる。

$$H' = - \sum_{i=1}^S Pi * \log_2 Pi$$

$$= 1 - \sum_{i=1}^S \frac{ni}{N} \log_2 \frac{ni}{N} \quad (0 \leq H')$$

*S*, 種数 ; *Pi*, *i* 番目の種類の個体数 ; *N*, 総個体数占める割合

## 4.3 結果

### 4.3.1 農薬濃度動態

**Fig. 4-5** にクロラントラニプロール処理の低濃度区と高濃度区の水および土壌の濃度動態を示す。クロラントラニプロール処理の水中における最高濃度は、低濃度区と高濃度区ともに薬剤投入直後 (2 時間後) であり、(カッコ内に標準偏差を示す) を示し、それぞれ、 $4.7 \pm 0.1 \mu\text{g/L}$ 、 $89.6 \pm 9.3 \mu\text{g/L}$  を示した。**Fig. 4-6** にフィプロニル処理の低濃度区および高濃度区の水・土壌の濃度動を示す。フィプロニル処理の水中の最高濃度は、いずれも 2 時間後であり、低濃度区では  $0.0089$ 、高濃度区では  $0.11 \pm 0.07 \mu\text{g/L}$  を示した。なお、両剤の水中における濃度半減期 (*DT*<sub>50\_water</sub>) は、クロラントラニプロール低濃度区では 2 週間後、高濃度区は 4 週間後となった。また、フィプロニルの低濃度区と高濃度区は、いずれもわずか 3 日後であった。加えて、フ

イプロニルは試験期間中に検出限界（0.001 $\mu\text{g/L}$ 未満）となり，低濃度区で56日後，高濃度区では84日後から，水中から成分は検出されなかった。

一方で，土壌中の残留濃度については，クロラントラニリプロールの低濃度区では，試験期間を経過する毎に，濃度が上昇しており，最高濃度は112日後で， $10.7 \pm 5.6 \mu\text{g/kg}$ であった。高濃度区においては，試験期間に渡ってばらつきが確認されるものの，最高濃度は，施用28日後で $159.8 \pm 88.0 \mu\text{g/kg}$ であり，試験期間終了の140日を経過後においても残留農薬が検出された。フィプロニル処理区では，低濃度区で3日後に最大濃度 $0.2 \pm 0.0 \mu\text{g/kg}$ を示し，高濃度区では7日後に最大濃度で $3.4 \pm 0.4 \mu\text{g/kg}$ が検出された。土壌中のフィプロニルの残留濃度は，時間経過とともに濃度の低下を示したものの，試験最終日では，低濃度区で $0.032 \pm 0.018$ ，高濃度で $0.020 \pm 0.003$ となり，水中から検出されなくなった日数以降も，土壌中からは試験終了まで検出された。

### 4.3.2 斃死

ドジョウ放流から24時間後に，フィプロニルの低濃度区で1尾，高濃度区で1尾，コントロール区で1尾の死亡個体が確認された。死亡個体の体長は，それぞれ55.7mm，59.2mm，63.2mmであり，いずれも未成魚であった。ただし，ドジョウ放流区でも死亡個体が確認されたため，補正死亡率は各条件ともに0%となった。

### 4.3.3 肥満度

試験期間におけるドジョウの肥満度の推移を，未成魚と成魚に分けて算出した。放流4週目における，未成魚および成魚の各条件下の肥満度はFig. 4-7に示す。

未成魚の肥満度については，ドジョウ放流区における放流前の肥満度は $5.6 \pm 0.7$ であり，放流4週目では $5.6 \pm 0.9$ を示した。薬剤処理区として，クロラントラニリプロールの低濃度区は，放流前で $6.2 \pm 0.7$ ，放流4週目は $5.5 \pm 0.6$ を示した。同剤の高濃度区は，放流前は $6.2 \pm 0.7$ ，放流4週目は $5.4 \pm 0.4$ を示した。続いて，フィプロニルの低濃度区では，放流前が $6.1 \pm 0.6$ ，放流4週目では $5.4 \pm 0.4$ を示した。同剤の高濃度区では，放流前は $6.2 \pm 0.4$ ，放流4週目は $5.6 \pm 0.5$ を示した。各条件における放流前と放流4週目の肥満度を比較したところ，クロラントラニリプロールの高濃度区において，放流4週目の肥満度は放流前よりも有意に低下していることが確認された（Welch's t-test, t値：3.99,  $P < 0.01$ ）。

続いて，成魚の肥満度については，ドジョウ放流区における放流前の肥満度は $6.2 \pm 1.0$ であり，放流4週目では $5.7 \pm 0.9$ を示した。薬剤処理区であるクロラントラニリプロールの低濃度区は，放流前で $6.9 \pm 1.3$ ，放流4週目は $5.7 \pm 1.4$ を示した。同剤の高濃度区は，放流前は $6.5 \pm 0.8$ ，放流4週目は $5.7 \pm 0.6$ を示した。続いて，フィプロニルの低濃度区では，放流前が $6.5 \pm 1.0$ ，放流4週目では $5.7 \pm 1.0$ を示した。同剤の高濃度区では，放流前は $6.7 \pm 0.7$ ，放流4週目は $5.4 \pm 1.0$ を示した。各条件における放流前と放流4週目の肥満度を比較したところ，ドジョウ放流区を除



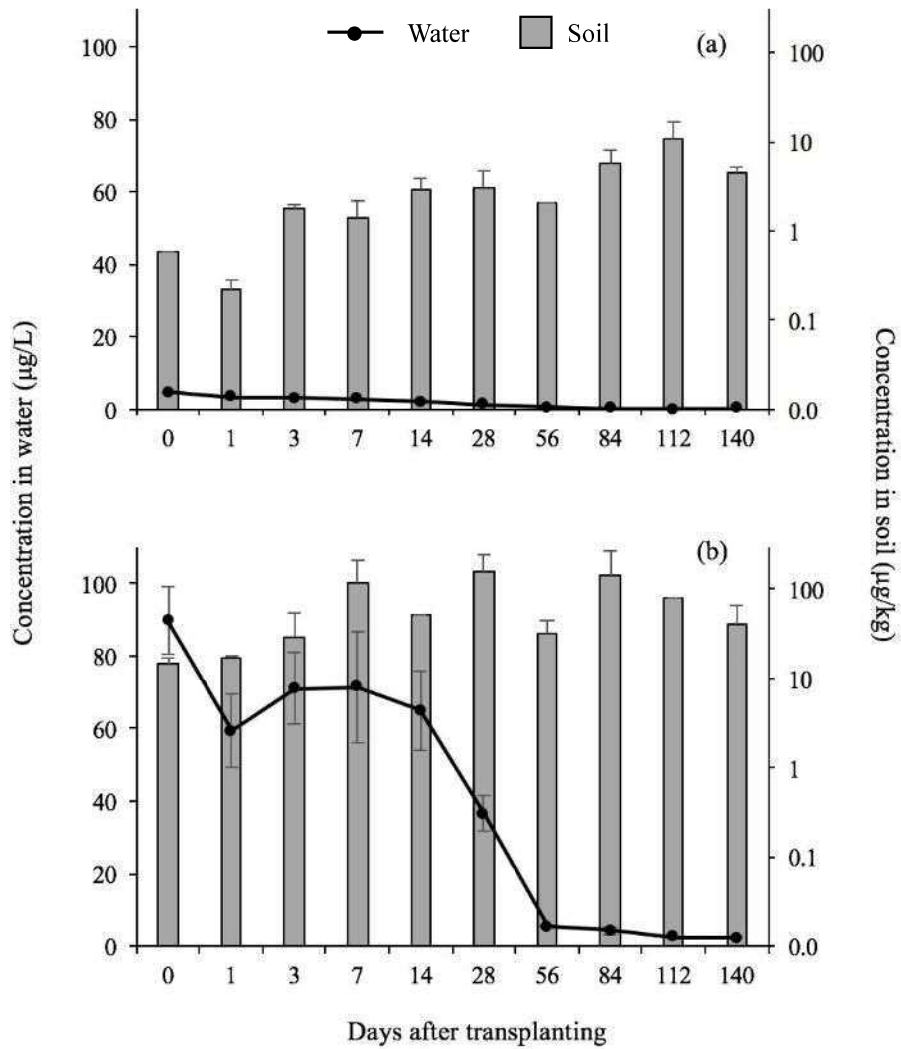


Fig. 4-5 メソコスム試験におけるクロラントラニプロールの濃度動態

Dissipation behaviors of chlorantraniliprole in water and soil of (a) low concentration and (b) high concentration tanks in mesocosm studies (Error bars indicate standard deviation)

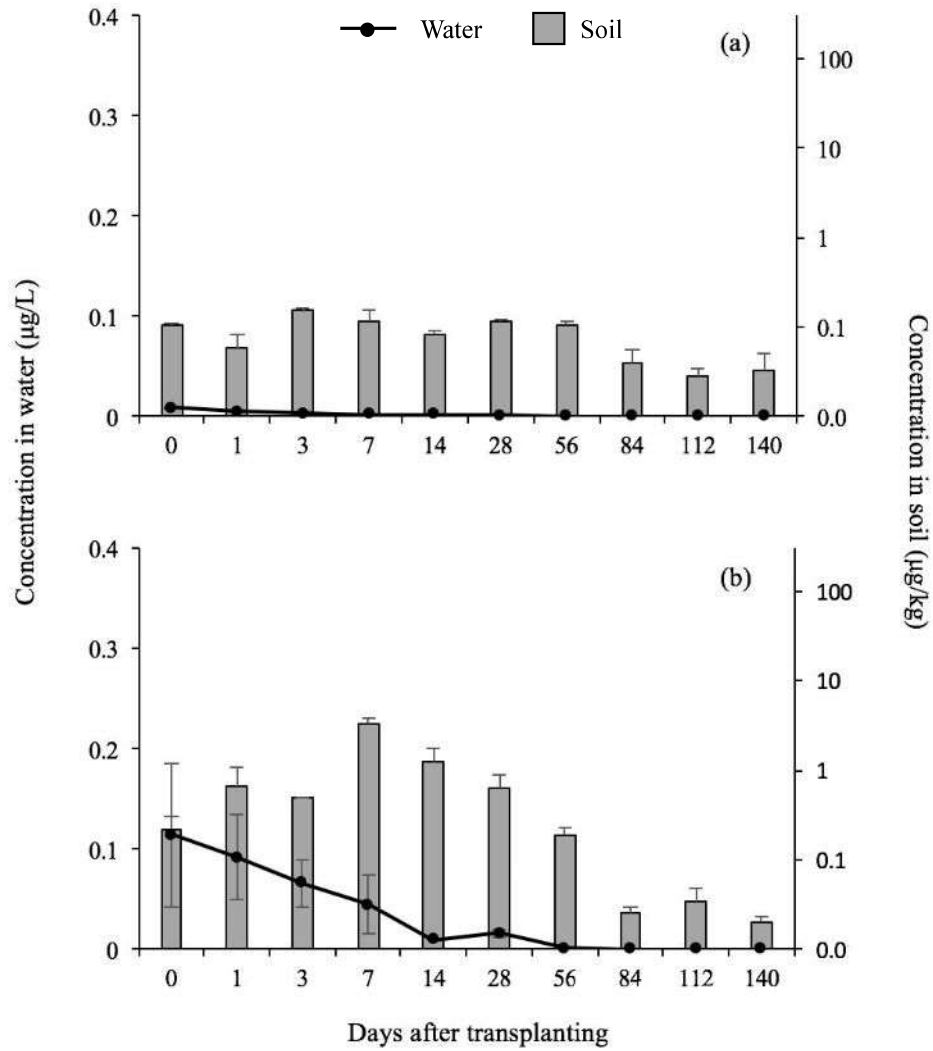


Fig. 4-6 メソコスム試験におけるフィプロニルの濃度動態

Dissipation behaviors of fipronil in water and soil of (a) low concentration and (b) high concentration tanks in mesocosm studies (Error bars indicate standard deviation)

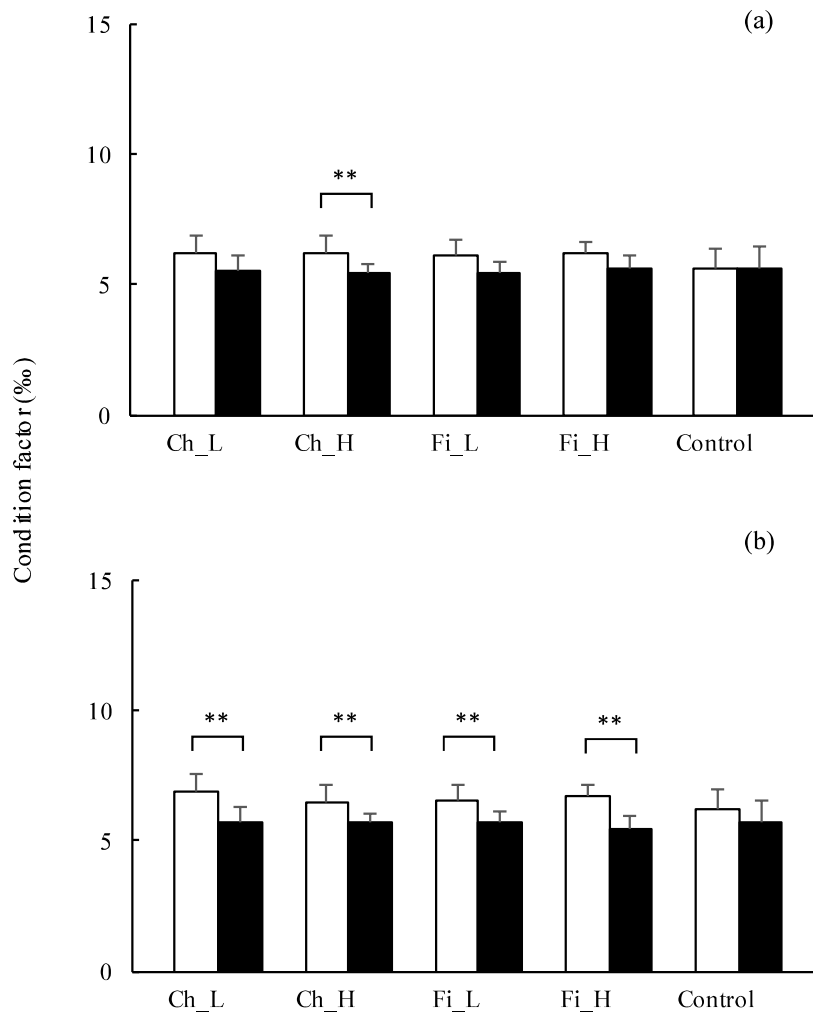


Fig. 4-7 メソコスム試験における放流4週目のドジョウの肥満度の比較

Condition factor ( $CF$ ) of *Misgurnus anguillicaudatus* after four weeks from the releasing in mesocosm experiments (a: juvenile ( $50 \leq TL < 80$  mm), b: adult ( $\geq 80$  mm TL). Ch: chlorantraniliplore, Fi: fipronil, L: low concentration area, H: High concentration area. Open bars, before releasing; closed bars, four weeks after. Error bars indicate standard deviation. \*\* denote significant differences ( $P < 0.01$ .)

く、全ての薬剤処理区であるクロラントラニリプロールの低濃度区 (Student's t-test, t 値 : 3.28,  $P < 0.01$ ) と高濃度区 (Welch's t-test, t 値 : 3.99,  $P < 0.01$ ), フィプロニルの低濃度区 (Student's t-test, t 値 : 3.54,  $P < 0.01$ ) と高濃度区 (Student's t-test, t 値 : 3.70,  $P < 0.01$ ) における放流 4 週目の肥満度が放流前よりも有意に低下していることが確認された。また、放流 4 週目の 5 群間における肥満度を比較したところ、有意差は確認されなかった (ANOVA, F 値 : 0.13,  $P < 0.05$ )。

放流から 8 週目の各条件の肥満度を未成魚と成魚共に放流前と比較をした。ドジョウ放流区を含む全ての条件下で、各試験装置内のドジョウは、放流前と比べて、8 週目になると肥満度は有意に低下することが確認された (Student's t-test,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

また、放流 8 週目の 7 月における野生個体の肥満度は、未成魚で、 $6.5 \pm 0.5$  となり、成魚では  $6.2 \pm 0.7$  を示した。

#### 4.3.4 生殖腺指数

メソコスム試験の各条件下と供試個体と同じ小河川で採捕された野生個体の未成魚および成魚の雌ドジョウの生殖腺指数を Fig. 4-7 に示す。未成魚は、放流前の 5 月の野生個体の生殖腺指数は、 $2.2 \pm 2.3$  を示した。また、放流 8 週後、各条件の未成魚の生殖腺指数は、以下の通りとなった。すなわち、ドジョウ放流区では  $1.3 \pm 0.3$  を示し、薬剤処理区であるクロラントラニリプロールの低濃度区で  $2.1 \pm 1.3$ , 高濃度区では、 $2.1 \pm 1.8$  を示した。また、フィプロニルの低濃度区では  $1.7 \pm 1.1$ ,  $3.5 \pm 2.2$  を示した。各条件の放流 8 週目のドジョウの生殖腺指数に有意差は確認されなかった (ANOVA, F 値 : 1.34,  $P < 0.05$ )。成魚の生殖腺指数については、ドジョウ放流区で  $6.8 \pm 5.2$  薬剤処理区であるクロラントラニリプロールの低濃度区で  $5.2 \pm 2.0$ , 高濃度区では、 $7.1 \pm 3.2$  を示した。フィプロニルの低濃度区では  $5.7 \pm 3.2$ ,  $6.5 \pm 3.2$  を示した。

放流前の 5 月と放流 8 週目の 7 月における、河川で採捕された雌ドジョウの生殖腺指数は、5 月では未成魚、成魚それぞれ、 $15.4 \pm 6.2$  であった。成魚の 7 月の生殖腺指数は  $6.8 \pm 5.2$ ,  $15.1 \pm 7.2$  となった。未成魚、成魚ともに野生個体の 7 月における生殖腺指数は、メソコスム試験の各条件よりも高い値となった。

また、メソコスム試験下におけるドジョウの稚魚は、放流 8 週目以降も確認されなかった。

#### 4.3.5 水生生物への影響評価

PRC は、薬剤処理条件の比較対照区であるドジョウ放流区を 0 として扱い、それぞれ処理区と比べ、生物群集動態が 0 からどれだけ離れているかを可視化する。ここでは、影響度の絶対値が 0.5 未満で影響なし、0.5 以上で影響ありとして評価される。

PRC 解析により、薬剤投入から 10 週間期間で変化 (増加・減少) した種を以下に示す。ドジョウの採捕は 7 週から 9 週目まで実施したため、解析期間を 10 週目までと定めた。ドジョウを放流しないコントロール区 (Fig. 5-8) では、ドジョウ放流区と比較し、カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコ (*Physocypris nipponica*) と同じくカイミジンコ科のイボカイミジンコ

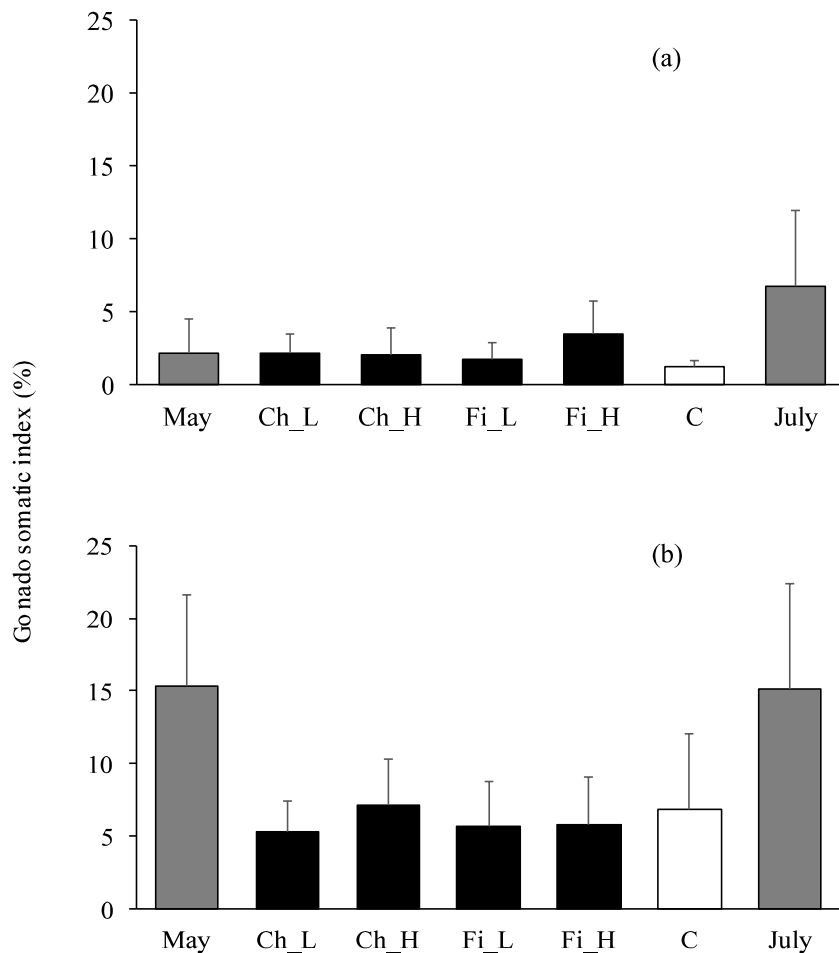


Fig. 4-7 放流 8 週目における雌個体の生殖腺指数の比較

Comparison of the Gonado somatic index of female loaches *Misgurnus anguillicaudatus* between the before experiment and eight weeks after (a: juvenile ( $50 \leq TL < 80$  mm), b: adult ( $\geq 80$  mm TL). Ch: chlorantraniliplore, Fi: fipronil, L: low concentration area, H: High concentration area. Closed bars, insecticide application; open bars, no insecticide; shaded bars, the Tsubonuma creek area, Sendai, Miyagi prefecture. Error bars indicate standard Deviation.)

(*Heterocypris* sp.) が増加を示し、ミジンコ科タマミジンコ (*Monia* sp.) 減少を示した。

ドジョウを放流した薬剤処理区を見てみると、クロラントラニプロールの低濃度区 (Fig. 5-9a) では、ドジョウ放流区と比べて、減少を示した種は確認されず、同条件区で増加を示した種は、ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ (*Polypylis hemisphaerula*)、ミズムシ科コムズムシ (*S.substriata*) の幼虫、カ科ハマダライエカ (*Culex orientalis*) の幼虫とユスリカ科ユスリカ (*Chironomidae* spp.) 幼虫とカ科 (*Culicidae* spp.) の幼虫が増加を示した。同剤の高濃度区 (Fig. 5-9b) では、ハマダライエカの幼虫、ユスリカ幼虫、カ科の幼虫、コムズムシ若虫幼虫が増加を示した。一方で、フィプロニルでは低濃度区 (Fig. 5-10a) および高濃度区 (Fig. 5-10b) においては、ドジョウ放流区よりも減少を示した種はコカゲロウ科コカゲロウ (*Baetis* spp.) の若虫が減少を示し、増加を示した種は、ミジンコ科タマミジンコの 1 種類であった。

また、10 週目までにおける各試験装置の Shannon-Wiener ( $H'$ ) による生物多様度指数の平均値を Fig. 5-11 に示す。ドジョウを放流したドジョウ放流区では、2 週目に 0.34, 4 週目に 0.80, 6 週目に 0.48, 8 週目に 1.27 および 10 週目には 1.10 を示した。クロラントラニプロールの低濃度区では、2 週目に 0.69, 4 週目に 0.48, 6 週目に 0.74, 8 週目に 0.59 および 10 週目には 1.39 を示した。同材の高濃度区では、2 週目に 1.14, 4 週目に 0.63, 6 週目に 0.35, 8 週目に 0.98 および 10 週目には 1.67 となった。フィプロニルの低濃度区では、2 週目に 0.71, 4 週目に 0.25, 6 週目に 0.00, 8 週目に 1.31 および 10 週目には 1.67 が示された。この条件下のみにおいて、多様度指の値として 0 が 2 週間に渡って確認された。まず、4 週目に確認された種はミジンコ科タマミジンコとユスリカ科ユスリカの幼虫の 2 種であったものの、6 週目に確認された種は、2 反復用意した試験装置からはユスリカ科ユスリカの幼虫の 1 種のみが確認された。続いて 8 週目に確認された種は、1 つの試験装置からはミジンコ科タマミジンコ 91 個体が、もう 1 つの試験装置からユスリカ科ユスリカの幼虫が 11 個体確認されたためである。一方で同剤の高濃度区は、2 週目に 0.68, 4 週目に 0.38, 6 週目に 0.48, 8 週目に 1.02 および 10 週目には 1.38 となり、低濃度区で確認された多様度指数の低下は確認されなかった。

コントロール区では、2 週目に 0.64, 4 週目に 1.16, 6 週目に 1.22, 8 週目に 1.31 および 10 週目には 1.67 を示し、全体を通して多様度指数はドジョウを放流した全条件区よりも高い傾向を示すことが明らかとなった。

## 4.4 考察

### 4.4.1 ドジョウに対する育苗箱施用殺虫剤 2 剤によるドジョウに対する致死性

ドジョウ放流区で 1 尾、薬剤処理区ではフィプロニルの低濃度と高濃度区で 1 尾ずつ、放流から 1 日後で装置内から、未成魚の死亡個体が確認された。補正死亡率はいずれも 0% となり、ドジョウの未成魚と成魚に対しては、薬剤による致死性は低いと考えられる。また、各試験装置で確認されたフィプロニルの水中濃度は、第 3 節の 96 時間急性毒性試験で確認された 100% 致死濃度

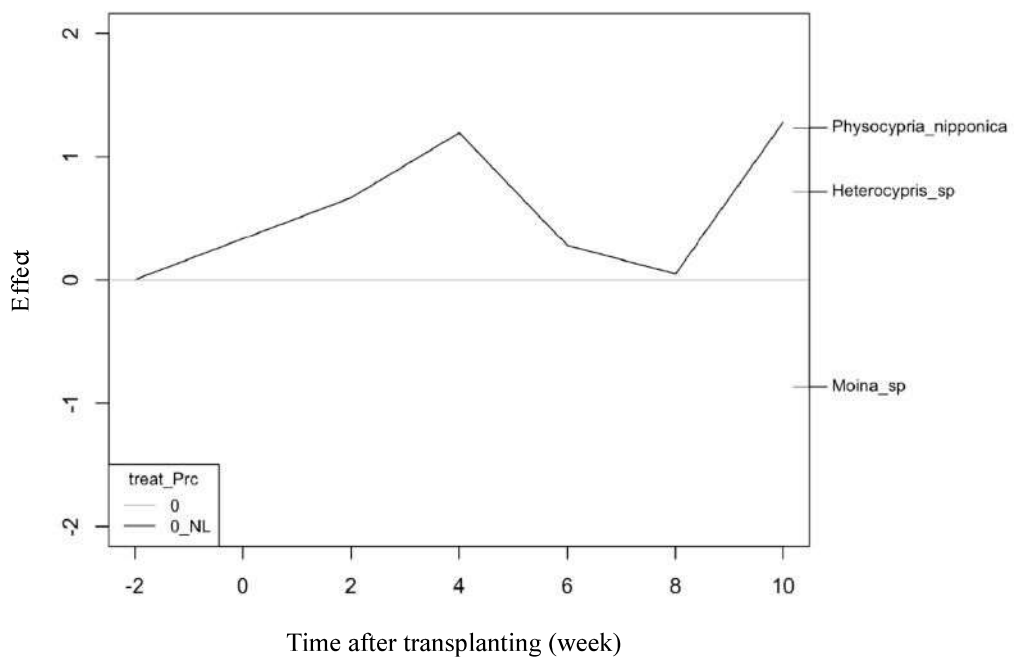


Fig. 4-8 ドジョウ未放流のコントロール区における PRC 解析結果

Principal Response Curve (PRC) indicating the effect of releasing loaches on paddy communities of the mesocosm experiments (The vertical axis represents the difference in community structure between controls (loaches releasing) *versus* each no loach releasing mesocosms)

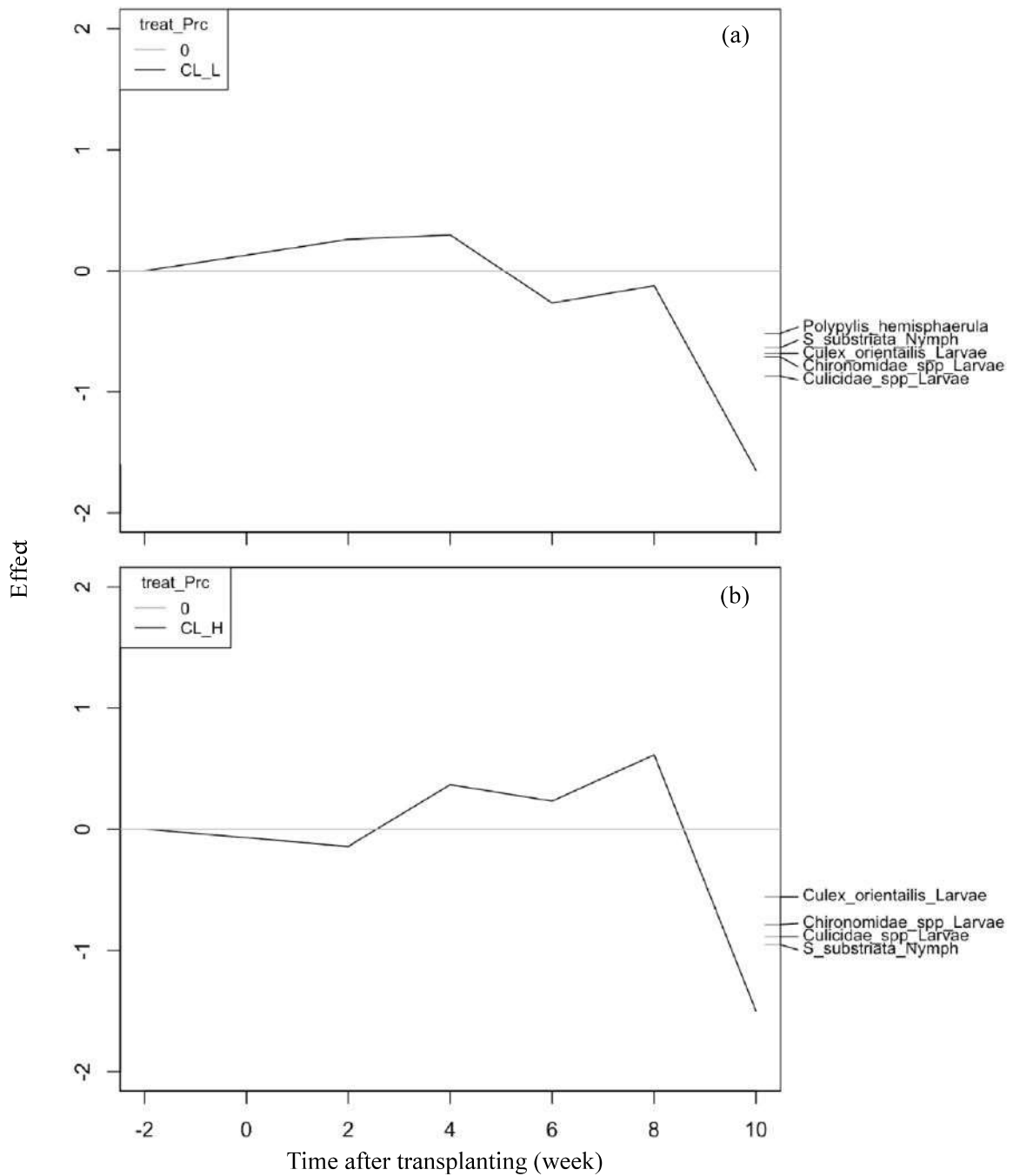


Fig. 4-9 クロラントラニプロールの低濃度区・高濃度区における PRC 解析結果  
Principal Response Curve (PRC) indicating the effect of Chlorantraniliprole on paddy communities of the mesocosm experiments (a: Low concentration area; b: high concentration area. The vertical axis represents the difference in community structure between controls (loaches releasing) *versus* each insecticide-treated mesocosms)



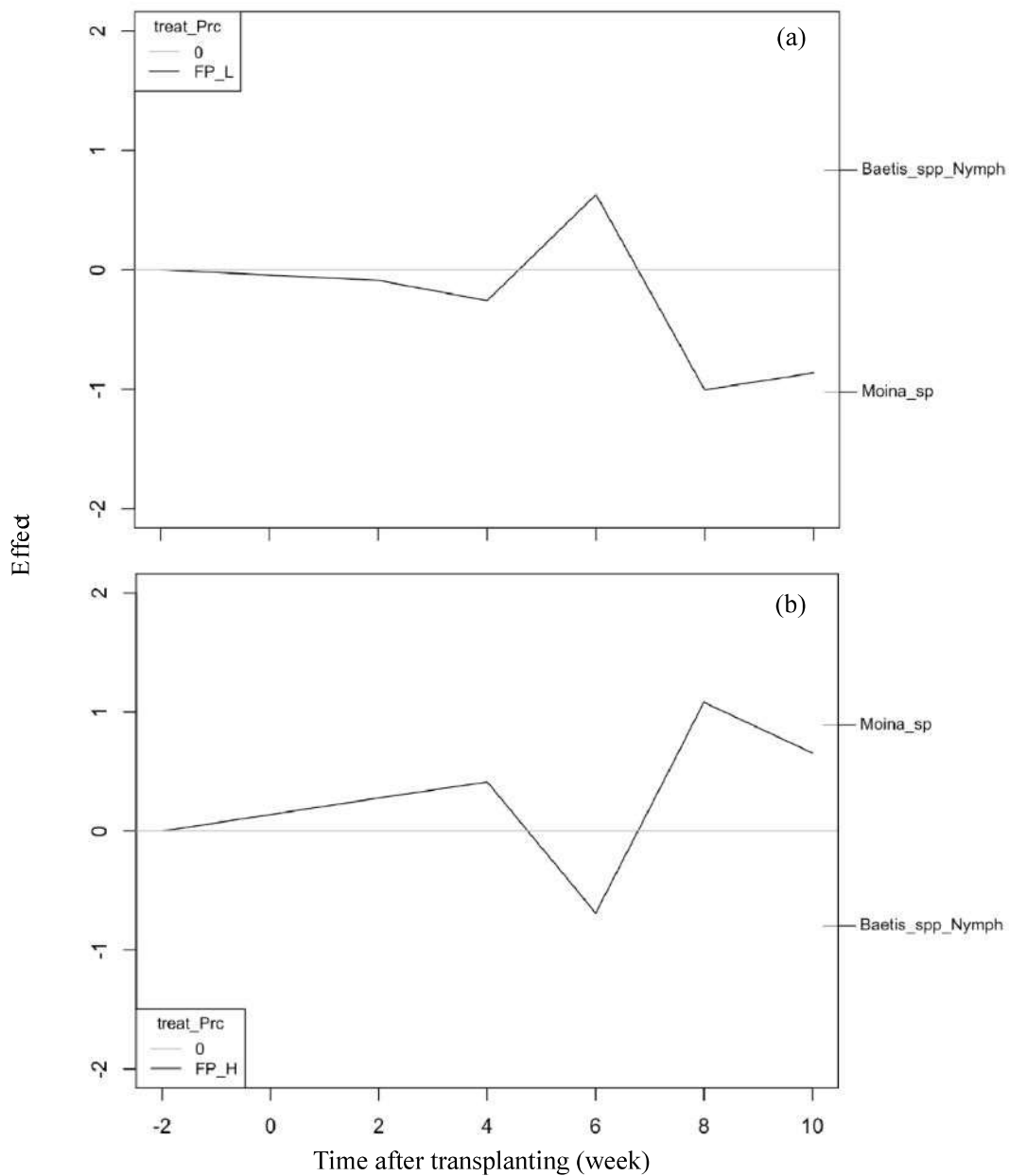


Fig. 4-10 フィプロニルの低濃度区・高濃度区における PRC 解析結果

Principal Response Curve (PRC) indicating the effect of Fipronil on paddy communities of the mesocosm experiments (a: Low concentration area; b: high concentration area. The vertical axis represents the difference in community structure between controls (loaches releasing) *versus* each insecticide-treated mesocosms)

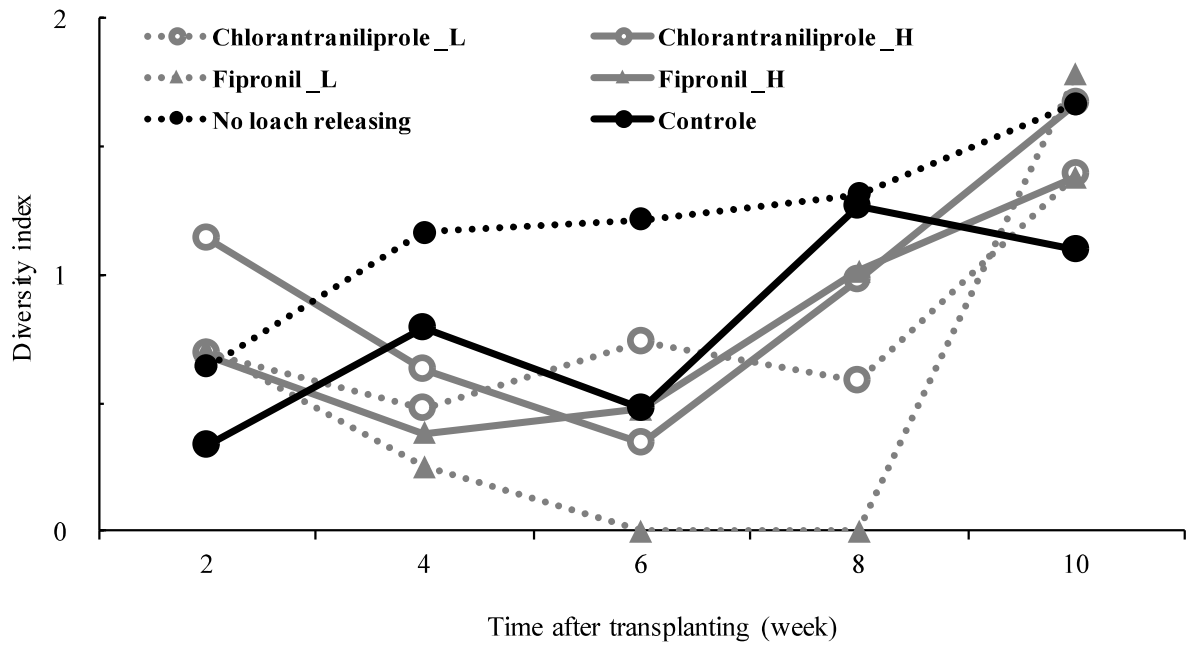


Fig. 4-11 メソコスム試験における Shannon-Wiener の多様度指数の推移  
 Transitive behaviors of Shannon-Wiener's diversity index in mesocosms experiments

よりも 1000 分の 1 程度の濃度であった。また、クロラントラニリプロールについては、本剤は、コイに対する LC<sub>50</sub> が 15,000g/L (日本植物防疫協会, 2011<sup>4-11</sup>) であり、本試験で検出された水中および土壌中の濃度と比較して、最も高い値を示した土壌中でも LC<sub>50</sub> の 1 万分の 1 程度であることが示された。以上により、第 3 章で実施したマイクロコスム試験とマクロコスム試験で斃死個体が確認されていないことから、致死影響は低いという結果と合致した。

#### 4.4.2 肥満度

メソコスム試験における未成魚個体の肥満度は、放流 4 週目では、クロラントラニリプロールの高濃度区がドジョウ放流区よりも有意に低いことが確認された。この減少は、第 3 章で未成魚を対象にライシメータ装置で実施したマイクロコスム試験と同様の結果であった。ただし、成魚に関しては、ドジョウ放流区を除く、クロラントラニリプロールとフィプロニルの低濃度区および高濃度区では、放流 4 週目の肥満度は放流前よりも有意に低下していた。特に、フィプロニルは、これまで第 3 章内で成魚を対象に実験圃場で実施したマクロコスム試験の結果と同様であった。このことから、クロラントラニリプロールはドジョウの未成魚に対して、一方でフィプロニルは成魚に対して、施用から 4 週目までの期間において、薬剤を起因として、ドジョウの肥満度の低下させる現象が生じていることが考えられる。それが餌資源を介するものか調べる必要がある。

放流 8 週目になると、ドジョウ放流区を含む全条件下で供試個体の肥満度は、放流前よりも低下が示されたものの、全体的に値は 6 付近を示した。また、同時期である 7 月の河川から採捕された同一群の未成魚と成魚の肥満度は、6 付近を示した。久保田 (1961<sup>4-25</sup>) によると、体長が約 90mm までは雄雌共に体長と体重の成長度合いは同一であるため、天然魚、飼育魚に関わらず、ドジョウの雌雄間および各年齢間における肥満度の差異は確認できないことが報告されている。

#### 4.4.3 生殖腺発達の要因

これまで、生殖腺の未発達は、餌不足によって生じる貧栄養状態が起因していると仮定して実験を実施していた。しかし、メソコスム試験での 7 月における肥満度は、未成魚と成魚ともに、野外個体との違いは確認されず、生殖腺指数に有意な違いは確認されなかったため、貧栄養状態が生殖腺の未発達の要因とは考えにくいことが推察される。

マイクロコスム試験、マクロコスム試験および今回のメソコスム試験を実施し、唯一再生産を確認できた試験区が、2014 年のマクロコスム試験の実験圃場であった。本来、一時的水域を繁殖の場とするコイ科やドジョウ科は、繁殖環境が整わなければ、最終成熟を起こさないと報告されており、例えば、水温や光条件 (鈴木・山口, 1977<sup>4-26</sup>) や密度 (鈴木, 1974<sup>4-27</sup>) が挙げられる。放流密度に着目すると、この実験圃場が最も低く、その密度は 1.7 尾/m<sup>2</sup>であった。密度については、鈴木 (1974<sup>4-27</sup>) が 1m<sup>2</sup>あたり 300g の密度を越えると受精率や孵化率が低下すると述べている。本試験の放流密度は、17.7 尾/m<sup>2</sup>であり、平均の試験開始時の総体重は各タンクで平均 51.2g

(最小 : 48.8g, 最大 : 56.5g) であり, 密度による影響は少ないものと考えられる. また, 試験装置を用いた本試験と実験圃場との違いとして, 密度の他には, 降雨による水位の上昇等が少なかったことが挙げられる. 本試験では, 人為的にタンク内の水位を維持している. すなわち, 薬剤濃度の希釈を防ぐために, 降雨の度にビニールシートを被せることで雨水の侵入を防いでいた. その結果, 水位変動による環境の変化が起きなかったためと考えられる.

以上のことから, ドジョウに対する育苗箱施用殺虫剤の亜致死影響として, 繁殖を評価する際には, 繁殖に影響を受けない密度を確保しつつ, 水田環境の水管理に準じた水位変動が生じる実験環境で実施する必要がある.

#### 4.4.4 水生生物への影響評価

ドジョウの放流期間に該当する放流 10 週目までの生物調査の結果を PRC 解析により, コントロール区の生物群集はミジンコ科タマミジンコの 1 種が減少し, カイミジンコ科のイボオヨギカイミジンコとイボカイミジンコの 2 種が増加を示した. この変化は, 試験装置内のドジョウの存在の有無の違いによるものである. すなわち, 未成魚と成魚のドジョウの放流という処理を取り除いて示される傾向であることから, ドジョウ放流によって, ミジンコ科タマミジンコは増加し, カイミジンコ科のイボオヨギカイミジンコとイボカイミジンコが減少することになる.

ドジョウの食性は成長につれて変化することが知られており, 今回試験に使用した体長 50mm 以上 80mm 未満の未成魚は主に動物プランクトン類, イトミミズ科を摂取する. また, 体長 80mm 以上の成魚では, それらに加えて水生昆虫 (Insect, Larva of insect) と, 植物性餌資源 (珪藻や植物の茎・根・種子) を摂取する (久保田, 1961<sup>4,28</sup>). つまり, 未成魚と成魚の共通の餌資源としては, 動物プランクトン類とイトミミズ科である. このことを踏まえると, ドジョウ放流によって減少傾向を示した種のうち, カイミジンコ科のイボオヨギカイミジンコとイボカイミジンコは, おおよそ未成魚と成魚のドジョウによる捕食が減少要因であると考えられる. 一方でミジンコ科タマミジンコが増加を示した理由は, カイミジンコ科の 2 種の減少による, ミジンコ類のトップダウン栄養カスケードによるものと推察される. そのためには, 今後, 炭素・窒素安定同位体比による食物連鎖網の調査による評価も必要と考えられる.

クロラントラニリプロールの低濃度区と高濃度区で増加を示した種は, ミズムシ科コミズムシの幼虫, カ科ハマダライエカの幼虫とカ科の幼虫は増加の 3 種は共通して増加が示された. 3 種に加えて, 低濃度区ではヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキが, また, 同剤の高濃度区 (Fig. 5-9b) では, 増加した種としてユスリカ科ユスリカ幼虫が増加を示した. ドジョウの未成魚と成魚の共通の餌資源である動物プランクトン類とイトミミズ類に対しては, 薬剤施用による減少が確認されなかった. 本試験における PRC 解析の結果では, この結果は, 第 3 章で実施したブラインシュリンプ (*Artemia* sp.) の急性毒性試験で得られた, 甲殻類に対する影響と類似する結果は確認されなかった. 総じて, クロラントラニリプロールはドジョウの餌資源に対する影響は小さいものと考えられる.

本試験ではフィプロニルの施用によって、増加を示す種は低濃度区と高濃度区共に、ミジンコ科タマミジンコの 1 種類のみであり、一方で減少を示した種は、コカゲロウ科コカゲロウの若虫であった。コカゲロウ若虫はドジョウの餌資源である水生昆虫に該当する。また、フィプロニル条件の各濃度区においては、クロラントラニプロールの低濃度区と高濃度区で確認された種数よりも増加を示した種は少なく、水生昆虫であるコカゲロウ若虫が減少することが確認された。Shannon-Wiener による多様性指数では、フィプロニル低濃度区では、施用 6 週目と 8 週目において多様性指数は 0 を示した。本試験と同様に小型水田をメソコスム試験として実施した早坂 (2014<sup>4-29</sup>) の PRC 解析結果では、ドジョウの餌資源の一部を担うイトミミズ類やユスリカ科の幼虫を含んだ底生生物は、育苗箱施用殺虫剤のフィプロニル施用後 6 週目から 10 週目の期間にかけて、一時的ではあるものの減少傾向を示し、その後は徐々に増加傾向を示している。しかしながら、本試験においてはイトミミズとユスリカ科の幼虫に対する減少は確認されなかった。これは、本試験が育苗箱施用殺虫剤を施用したのではなく、予め設定した濃度の薬剤成分を投入したためと考えられる。すなわち、既存研究で検出された最高濃度は 1 $\mu$ g/L 程度 (神宮字ら, 2009<sup>4-32</sup>, 早坂, 2014<sup>4-29</sup>) にあるにも関わらず、設定濃度区の高濃度である HC<sub>50</sub> 濃度値でも、確認された水中最大濃度は 0.11 $\mu$ g/L と 10 分の 1 程度と低いために同様の影響は確認されなかったと考えられる。

ドジョウの餌資源に対する薬剤による影響については、ドジョウの肥満度の比較から考察すると、フィプロニルの低濃度区と高濃度区における放流 4 週目の肥満度は、放流前と変化はないため、つまりこの時点では、供試個体は十分に採餌をしていたものと考えられる。フィプロニルの土壌吸着係数 (Koc) は 548~1,720 であり、農薬濃度動態の結果においても、試験期間終了後 20 週目にも土壌中に残留していることが明らかとなった。また、フィプロニルは、これまでにアカネ属の若齢若虫に対して個体数減少の要因であることが報告されている (例えば、小山・城所, 2003<sup>4-30</sup>; 嶋田ら, 2004<sup>4-31</sup>; 神宮字ら, 2009<sup>4-32</sup>, 2010<sup>4-33</sup>; Jinguji et al., 2013<sup>4-34</sup>; 早坂ら, 2013<sup>4-35</sup>)。以上のことから、フィプロニルに関しては、翌年度以降の土壌中で越冬するドジョウや水生生物群集に対する長期的影響も懸念される薬剤である。本試験では、フィプロニル施用の低濃度区、高濃度区においてアカネ属を含むトンボ科に対して影響は確認されなかった。しかし、これは放流したドジョウの成魚による捕食の影響を受けていることが想定されるため、生物間相互作用の影響を評価するためには、本試験と同一条件で、ドジョウを放流せずに、薬剤を施用した環境も用意し、その上で各水生生物群集の増減が、ドジョウの存在によるものなのかどうか整理する必要がある。

Kasai ら (2016<sup>4-36</sup>) によると、水田でメソコスム試験から PRC 解析を実施したところ、フィプロニルの施用水田と比べて、シオカラトンボやショウジョウトンボのトンボ科に対して強い影響が確認されたものの、クロラントラニプロールを施用した水田では、影響は確認されず、比較的影響の低い薬剤であると報告している。そのため、水生生物群集に対しては、比較的に影響は低い育苗箱施用殺虫剤として考えられる。

## 4.5 小括

メソコスム試験において、ドジョウに対するフィプロニルとクロラントラニリプロールの影響を、肥満度と生殖腺指数、水生生物群集に対する影響から評価を実施し、ドジョウは水田土壌中の休眠卵から発生したと考えられる動物プランクトンとしてカイミジンコ科の2種を摂取していたことが示唆された。クロラントラニリプロールを施用した低濃度区と高濃度では、生物群集はコントロールと比べて減少を示した種は確認されず、増加を示した種は、低濃度と高濃度区共に4種であることが示された。フィプロニルを施用した低濃度区と高濃度区共に、増加した種は水生昆虫のコカゲロウの若虫であり、ドジョウの餌資源となるミジンコ科タマミジンコの1種が増加をしていた。このことから、PRC解析において、クロラントラニリプロールの低濃度区と高濃度区で増加を示した種数は、フィプロニルのそれと比べて、多いことが明らかとなった。フィプロニルは土壌吸着性が548~1,720であり、試験期間である20週(140日)を経過後も、土壌中に残留していることが明らかとなった。そのため、翌年以降の水生生物群集に対する影響が懸念される。一方、クロラントラニリプロールの土壌吸着性は100~526(Koc)であり、継続使用を考慮すると、本剤は比較的、水生生物群集に対する影響が低い薬剤であると考えられる。

# 第5章 管理者による実践を通じた適正な毒性試験の開発

## 第1節 現行の農薬登録基準と本研究の生態毒性試験のまとめ

我が国における農薬登録基準の要件は、詳細を「第1章 2.2.2 国内の動向」に示したが、OECD テストガイドラインに基づき、藻類、甲殻類のオオミジンコ、魚類のニホンメダカ（あるいはコイ）の「3種類の標準試験生物種」に対する個体レベルでの室内急性毒性試験の実施が義務付けされている（Table 5-1）。その理由として、①生態系の各栄養段階（生産者、一次消費者、高次捕食者）を代表すること、②継代飼育と維持が容易であること、③化学物質に対する感受性が比較的に高い、等の理由で選定されている（横山, 2011<sup>5-1</sup>）。しかし、これらは室内試験で隔離された環境での試験結果であるとともに、試験生物種の試験結果と野外環境中に生息する生物種の農薬に対する感受性の違いが乖離することで、適切な評価に至らないとの懸念もされている（例えば、横山, 2011<sup>5-1</sup>；早坂, 2014<sup>5-2</sup>）。そのために、各国や各地域の特性に応じた生物種を活かした方針（Wu et al., 2007<sup>5-3</sup>；Hayasaka et al., 2013<sup>5-4</sup>）や他の影響評価軸（エンドポイント）による影響も検討される必要がある。

そこで本論文（Table 5-1）では、育苗箱施用殺虫剤を対象にして、ドジョウに対する致死影響と亜致死影響を評価するために、OECD テストガイドラインで採用されているマイクロコスム試験だけでなく、他の擬似試験系としてメソコスムとマクロコスム試験による生態毒性評価試験を試みた。まずは、育苗箱施用殺虫剤に曝露が想定されるドジョウの分布を把握する必要があるため、第2章では、春先の水田環境周辺に生息するドジョウの分布を調べた。その結果、水田土壌中では未成魚が優先して存在しており、このことから、田植え時には水田中に存在するドジョウの未成魚に対して育苗箱施用殺虫剤が比較的早期に曝露される可能性があることが示された。この結果を踏まえ、試験薬剤として、魚毒性A類からB、B・sおよびC類に区分されている現行の育苗箱施用殺虫剤を各1剤ずつ選定し、それぞれの薬剤がドジョウに及ぼす影響を評価した。第3章では、ドジョウの未成魚や繁殖に寄与する成魚に対し、マイクロコスム試験とマクロコスム試験を用いて、薬剤の致死影響の確認に加え、亜致死影響として、肥満度や生殖腺指数をエンドポイントに定めて生態毒性評価試験を試みた。いずれの条件区においても斃死個体は確認されず、現行の育苗箱施用殺虫剤は致死影響が低いことが示唆された。一方で、亜致死影響をドジョウの成長段階に応じて、未成魚と成魚で試みたところ、未成魚のドジョウは魚毒性C類のフェニルピラゾール系殺虫剤であるフィプロニル条件下においては、十分に性成熟に至らず、生殖腺の発達に影響を及ぼす薬剤であることが確認された。また、成魚については、試験を給餌環境中で実施したところ、未成魚のフィプロニル条件下で確認された、生殖腺の発達に対する影響は確認されなかった。そこで、第4章においてメソコスム試験では、加えて、第4章では、挙動と遊泳能力

Table 5-1. 我が国における現行の農薬登録基準と本論文の評価試験の比較

The comparison of current effect assessment under the Japanese Pesticide Law with this thesis's assessment

Types of experimental ecosystems	Current effect assessment				This thesis			
	OECD guidelines for the testing of chemicals	End point	Acute	Chronic	Test	End point	Acute	Chronic
Microcosm	Acute toxicity tests				Ecotoxicology test	Mortality	○	○
	Fish	( <i>Oryzias latipes</i> , <i>Cyprinus carpio</i> )	Mortality	○		Condition factor		○
	Daphnids	( <i>Daphnia magna</i> )	Mortality	○		Gonado somatic index		○
	Algae	( <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> )	Mortality	○	Acute toxicity test	Mortality	○	
						Body flexion	○	
						Convulsion, Tetany	○	
						Loss of equilibrium	○	
Mesocosm					Swimming ability	○	○	
					Ecotoxicology test	Mortality	○	○
						Condition factor		○
						Gonado somatic index		○
Macrocosm						PRC		○
					Ecotoxicology test	Mortality	○	○
						Condition factor		○
					Gonado somatic index		○	



を新たな亜致死影響の評価するため、96時間急性毒性試験と遊泳試験を実施し、ドジョウの屈曲、痙攣、平衡感覚の喪失や遊泳能力といったエンドポイントを用いて生態毒性評価試験を実施した。その結果、フィプロニルの水中濃度が1.0 $\mu\text{g/L}$ 以上では屈曲と平衡感覚の喪失の発現が確認されたが遊泳能力はコントロールと同程度であった。しかし、10 $\mu\text{g/L}$ 以上になると、平衡感覚の喪失を発現し、遊泳能力に支障を来す恐れもあることが確認された。ただし、規定の施用量における、最高の水中濃度は、おおむね1 $\mu\text{g/L}$ であるため、実環境中では遊泳能力は支障をきたさないことが考えられる。また、フィプロニルと魚毒性B類のジアミド系殺虫剤のクロラントラニリプロールの2剤を各薬剤のHC<sub>5</sub>（群集の5%の種が影響を受ける濃度）およびHC<sub>50</sub>（群集の50%の種が影響を受ける濃度）の2濃度値から低濃度区と高濃度区を用意し、薬剤施用によるドジョウの餌資源に対する影響をドジョウの放流期間におけるPRC解析から影響評価を試みた。その結果、ドジョウの放流期間においては、クロラントラニリプロールの低濃度と高濃度では、いずれもミズムシ科コミズムシ若虫、カ科ハマダライエカ、カ科幼虫の3種が共通して増加を示し、それらに加えて、低濃度区ではヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキが、高濃度区ではユスリカ科ユスリカ幼虫が増加を示すことが確認された。一方で、フィプロニルでは低濃度区と高濃度区いずれもコカゲロウ科コカゲロウ若虫が減少し、ミジンコ科タマミジンコの1種が増加を示した。クロラントラニリプロールは、フィプロニルよりも水中と土壌中の濃度が比較的低いため、ドジョウおよびドジョウの餌資源を含む水生生物群集に対して影響が低い薬剤であることが示された。

このことから、従来のOECDテストガイドラインによる、3種を用いた試験結果のみの生態毒性評価試験の試験データに加え、未成魚と成魚といった2つの成長段階の供試個体を用いて、マイクロコスムからメソコスムとマクロコスム試験までの試験系とそれぞれの系における多項目のエンドポイントによる生態毒性評価試験から、育苗箱施用殺虫剤の影響を評価した。ただし、これらの試験結果を、実環境の水田におけるドジョウの保全へと活用するにあたり、水田の管理者である農業者の視点から、薬剤の影響評価の手法を提案することも必要である。例えば、我が国の魚毒性にはA類からC類までの段階区分がなされていたものの、毒性評価試験の変化を受けて、2011年以降、廃止された。このことから、廃止以降に農薬登録される薬剤に対しては、農業者にとって、ドジョウをはじめ、保全対象種に対する薬剤の影響が大きいものかどうかを判断する基準ならびに試験データを現場へ反映することが難しいことが想定される。

## 第2節 本章の目的

第4章から、クロラントラニリプロールはドジョウや水生生物群集に対し、比較的影響の低い薬剤であることが示された。そこで、本章では、これまでの本論文の成果を基に、ドジョウの保全のための育苗箱施用殺虫剤として、クロラントラニリプロールを実際的水稻の栽培管理に採用してもらい、現場へと導入してもらう必要がある。しかし、その手法は、経済性や作業の容易さ等を考慮し、農業者に対して導入され易い手法でなければいけない。例えば、生態系に対する保全施策の一つの管理手法として、順応的管理（adaptive management）の考え方が重要視されて

いる（鷺谷, 1998<sup>5-5</sup>）. 順応的管理とは, 対象に対する保全施策の実行を, 自然界における不確実性を認めた上で, 順応的な方法により, 多様な利害関係者の参加の基に実施しようとする管理手法のことである（Costanza et al, 1998<sup>5-6</sup>）. しかし, Walters（1997<sup>5-7</sup>）は, この管理手法の問題点として, 長期的な管理計画が求められること, また, 様々な関係者を含む管理手法であるため, 意見の対立や利害関係に基づく価値観の相違によって衝突が生じてしまい, 実験圃場での実施は困難であると述べている.

そこで, ケーススタディとして, 実際の水田へアカトンボの保全のための栽培管理を, 農業者やJAの意向を基にし, 水田圃場の管理者である農業者が直接, 生物調査に加わることで, 栽培管理と確認された生物種の相違を経験から認知させるリスクアセスメントミティゲーションプログラム（Program of risk assessment mitigation ; 以下, RAMP とする）を管理手法として採用した. 結果, 継続的な保全策の導入まで至った事例から, ドジョウの保全に向けた農業者に導入し易い栽培管理の提案をすることが目的である.

### 第3節 農業者を主体としたリスクアセスメントミティゲーションの実践と効果

#### 3.1 はじめに

本節では, 童謡「赤とんぼ」に登場するなど, 日本人にとって馴染み深い種であるアカトンボを保全対象とする. アカトンボはトンボ科アカネ属の約21種の総称であり, 主に水田の普通種である. しかし近年, アキアカネをはじめとするアカトンボの個体数減少が指摘されている（上田, 2008a<sup>5-8</sup>, 2008b<sup>5-9</sup>; 二橋, 2012<sup>5-10</sup>; 福井, 2012<sup>5-11</sup>）.

アカトンボの減少原因は, 水田の育苗箱施用殺虫剤の施用による若齢若虫の斃死（小山・城所, 2003<sup>5-12</sup>; 小山ら, 2005<sup>5-13</sup>; 嶋田ら, 2004<sup>5-14</sup>; 神宮字ら, 2009<sup>5-15</sup>, 2010<sup>5-16</sup>; Jinguji et al., 2013<sup>5-17</sup>）, 中干しによる羽化未到達幼虫の乾燥死（粟生田ら, 2013<sup>5-18</sup>）および排水システムの変化に伴う秋期の水溜りである産卵場の消失（長坂ら, 2003<sup>5-19</sup>）が報告されている. アカトンボは水田環境に依存した昆虫であるため, 水田の栽培管理技術の工夫がアカトンボの保全にとって重要である. そして, アカトンボの個体数の回復のためには, 農業生産性と環境保全を両立する技術の構築だけではなく, その栽培管理が農業者にとって意欲的に取り組むことができる技術でなければならない. 粟生田ら（2013<sup>5-18</sup>）は, 農業者の環境保全意識を高めることを目的にアカトンボ調査を実践しているが, 実水田において保全対策の導入にまでは至っていない.

そこで, 本研究ではRAMPに基づき, アカトンボの保全を考慮した栽培技術を実水田へ導入後, その技術の効果を検証した. RAMPとは保全対象種の生息に及ぼす危険因子（リスク）を明らかにし, その因子を緩和（ミティゲーション）する対策を実施する活動である. 具体的には, まず, 水田におけるアカトンボの生息状況を調査して, 個体数の減少要因を明らかにした. 次に, 個体数回復に有効と考えられる新たな栽培技術を導入した. そして, 栽培技術の評価を行うと共に改善策について考察した.

本節では、宮城県大崎市の旧田尻町（田尻地域）において 2009 年から 2013 年まで 5 年間に渡り実施した RAMP の概要と導入結果について報告する。このことから、対象生物種の保全のための栽培管理を農業者へと継続して導入してもらうための手法を提示することが目的である。

## 3.2 材料と方法

### 3.2.1 RAMP の概要

RAMP の概要を Fig. 5-1 に示す。2009 年から 2013 年まで、水田におけるアカトンボの発生状況を把握するため、農業者がアカトンボの羽化殻を採集する羽化殻調査を実施した。調査場所は宮城県大崎市内に位置する旧田尻町内（田尻地域）の水田地帯を対象とした。

2012 年に RAMP1 として低リスク殺虫剤の選択、2013 年には RAMP2 として育苗箱施用殺虫剤の額縁処理を導入した。ここで指す額縁処理とは、育苗箱施用殺虫剤を処理した苗を、水田畦畔沿いのみに移植して、畦畔から水田の中央部にかけて侵入してくる害虫を防除する方法である（城所・林、2000<sup>5-20</sup>；渋谷、1991<sup>5-21</sup>，1993<sup>5-22</sup>）。額縁処理は育苗箱に薬剤を散布するため、田植機の移植条数に合わせて、額縁状に薬剤処理された苗が移植される。2013 年に額縁処理を導入した水田では、6 条と 8 条、12 条の計 3 つの施用条件を現地において確認した。12 条は、6 条植え田植機の移植条数 2 列分に相当する。

### 3.2.2 RAMP の活動主体と連携組織

RAMP の活動主体および連携組織とその役割を Fig. 5-2 に示す。RAMP の活動内容は、参加者の募集、調査の実施、分析および評価に大別される。活動参加者となる農業者の募集は、田尻産直委員会が行った。活動参加を希望する農業者に対して調査説明会を開催した。その際、参加を決定した農業者に調査の手引き、調査用具および栽培管理の記録用紙を配布し使用した。調査結果は JA みどりのが回収し、大学が分析と評価を行った。評価結果は、報告会を通じて旧田尻町地区内の農業者に対して伝えると共に意見交換を行った。評価結果および農業者の意見を基に、生協、農協、NPO、消費者、専門家の意見を交えて、栽培方針を決定した。この内容は、次年度に取り組み RAMP の提案や改良に反映させた。

### 3.2.3 対象生物のモニタリング調査

アカネ属の羽化殻調査は上田（2008a<sup>5-8</sup>，2008b<sup>5-9</sup>）に基づいた。すなわち、農業者は水田水口部の 4 条目の稲株 40 株（4 条×10 列）を選定後、採集区画の四隅に目印となる支柱を設置して区画内に発生した羽化殻を採集した。羽化殻の採集期間と供試圃場数は以下の通りである。2009 年は 51 筆で 6 月 24 日から 7 月 21 日まで、2010 年は 46 筆で 6 月 24 日から 7 月 21 日まで、2011 年は 19 筆で 6 月 24 日から 7 月 21 日までの 4 週間とした。2012 年からは、羽化殻採集結果や農業者からの調査実施期間短縮の要望を受けたため、実施期間を 3 週間に変更した。そのた

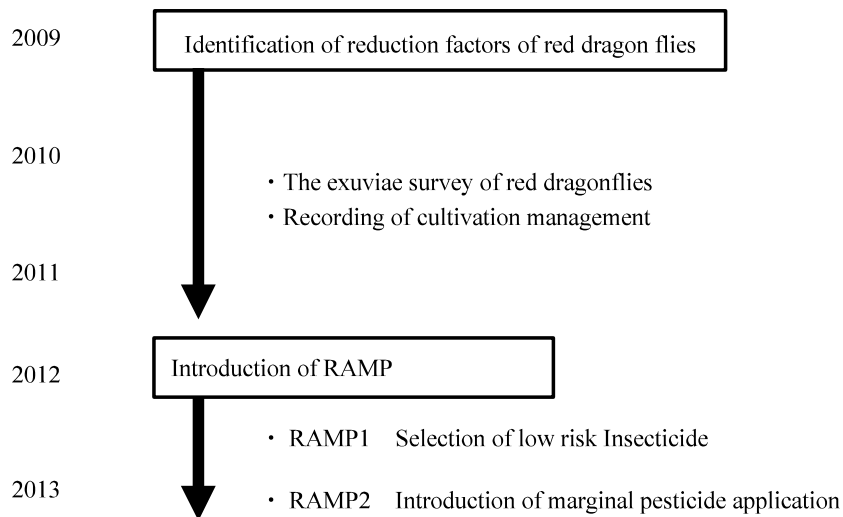


Fig. 5-1 アカトンボ保全のための RAMP の概要  
The outline of RAMP for conservation of red dragonflies

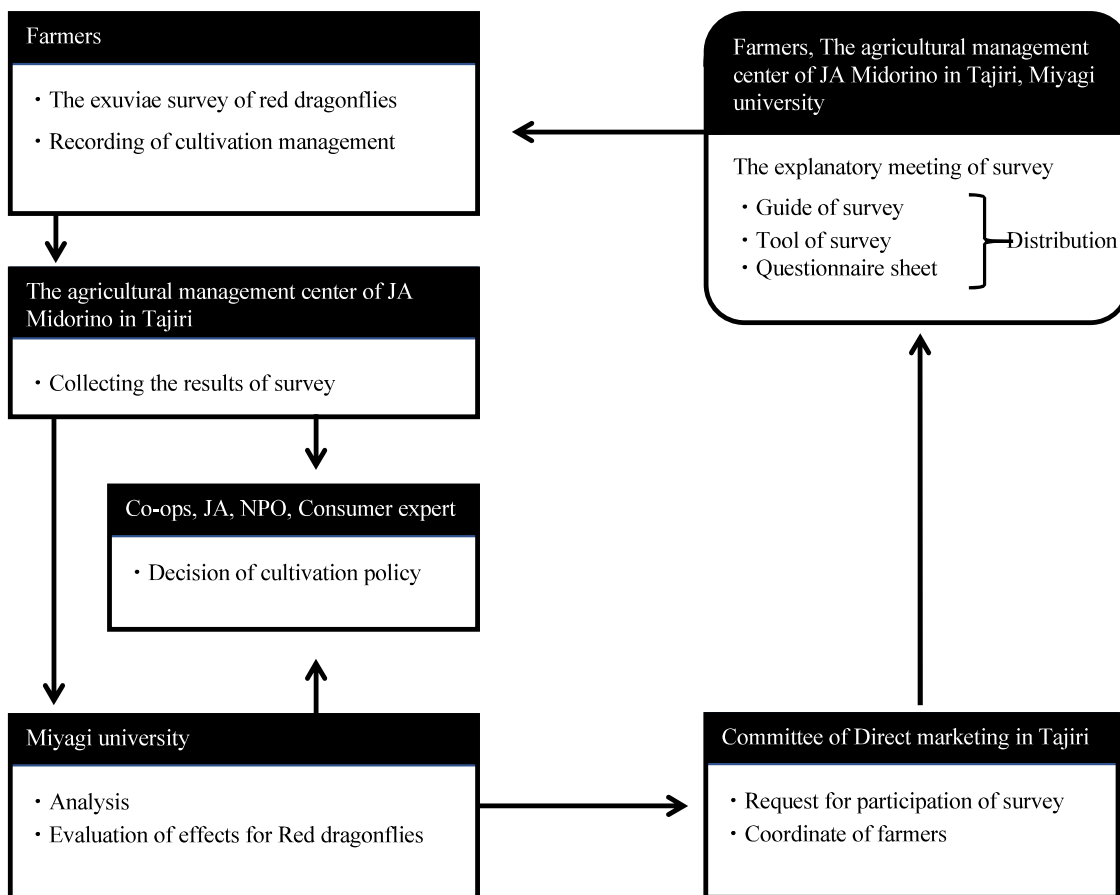


Fig. 5-2 アカトンボ保全のための RAMP の活動組織の概要  
The outline of organization activities for RAMP for conservation of red dragonflies

め 2012 年は 24 筆で 7 月 1 日から 7 月 21 日まで、2013 年は 26 筆で 6 月 23 日から 7 月 13 日までの実施とした。採集頻度は農業者への負担を考慮して、水回りの作業と平行して実施することを想定して原則 3 日間と定めた。

また、アンケート結果から、羽化殻調査の採集区画内では羽化殻が確認できなかったが、区画の外には羽化殻が発生していると報告を受けた。そこで本調査の採集範囲の妥当性について評価の要望を受けたため、水田補足調査として、2013 年に宮城大学農村生態工学研究室が当該地域の羽化殻の採集調査（以下、「補足調査」とする）を実施した。補足調査の実施時期は 6 月 23 日から 7 月 19 日にかけてであり、期間中は毎日水田で発生した羽化殻を採集した。採集範囲は、農業者の羽化殻調査水田において実施し、水口側の畦畔から 3 条目までのすべての稲株（3 条×水口一辺）に発生した羽化殻を採集した。

単位面積当たりの羽化殻数を算出するに当たり、羽化殻調査と補足調査における採集区画の面積と算出方法は、以下の通りとした。羽化殻調査では、採集区画を 40 株の栽植面積として扱い、当該地域において一般的な栽植密度 22.2 株/m<sup>2</sup>（条間 30cm×株間 15cm）に基づいて、一律 1.80m<sup>2</sup>とした。補足調査は、水口畦畔長と畦畔から 3 条目までの稲株の距離の積として算出した。水口側の畦畔長は、調査水田毎に異なるため、エスロン巻尺を用いて現地計測した。畦畔から 3 条目までの稲株の距離は、栽植密度から一律 1.05m として扱い、採集面積を算出した。採集された羽化殻数を採集面積で除して羽化密度（個体数/m<sup>2</sup>）を算出した。

採集された羽化殻は週毎に用意したチャック付き袋に入れて、潰さないようにプラスチック製ケースで保管した。調査終了後、羽化殻調査で参加者が採集した羽化殻は JA みどりの田尻営農センターへ提出後、宮城大学に郵送した。羽化殻は 1 個体ずつピンセットとルーペを用いて種同定を実施した。

### 3.2.4 栽培管理の記録

羽化殻調査に参加した農業者は、以下のアンケート項目に沿って羽化殻が採集された水田の栽培管理について回答した。①氏名、②水管理（耕起日、水入日、田植え日、中干し期間）、③施用殺虫剤・殺菌剤・除草剤（商品名、散布量）、④その他の抑草資材（米ぬか、くず大豆）、⑤調査に対する意見（調査区画以外での羽化殻の有無、調査の負担、調査に取り組んだ理由、参加後の感想）である。

### 3.2.5 食害被害

額縁処理の導入に伴い、育苗箱施用殺虫剤の処理の有無による害虫被害を把握するため、本剤の防除対象である食葉性害虫による食害調査を実施した。調査時期は 2013 年 6 月 6 日から 7 月 11 日までの週 1 回の頻度で実施した。2013 年の調査株は、1 筆につき水口部と水田中央部の 2 ヶ所に分けてそれぞれ調査した。水口部は水口 3 条目の連続した 25 株とし、水田中央部は畦畔から 15 条目から水田中央方向に向けて連続した 25 株とした。調査の際は、同じ株を評価するため支柱を

区画の目印として用いた。

供試圃場で確認された害虫はイネミズゾウムシ *Lissorhoptrus oryzophilus* とイネドロオイムシ *Oulema oryzae* であり、これら 2 種による食害痕を評価した。これらの種は食害した際、葉に線状または緋状の白い食害痕を残す。そこで、1 株の全葉のうち食害痕が占める割合を目視による調査後、神宮宇ら (2010<sup>5</sup>・12) に基づきイネの被食度の評価を行った。食害指数は 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 の 5 段階で評価した。食害指数 1.0: ほとんど食害痕がない状態 (0%), 1.5: 1%以上 25%未満, 2.0: 25%以上 50%未満, 2.5: 50%以上 75%未満, 3.0: 75%以上または全失葉 (100%) を表す。

本調査実施期間の 6 月 27 日からコバネイナゴ *Oxya yezoensis* の生息と食害痕が確認された。コバネイナゴは、調査年に施用されていたクロラントラニリプロールを成分とする殺虫剤 (以下、「クロラントラニリプロール」とする) の防除対象には含まれない。このため、コバネイナゴの食害状況を把握するために、同様の食害調査を合わせて実施し評価した。

### 3.3 結果

#### 3.3.1 対象生物の保全効果

水田で確認されたアカネ属は、ナツアカネ、ノシメトンボ、アキアカネ、マイコアカネの 4 種類であり、総羽化殻数は 1,015 頭であった。各年度の調査で採集された羽化殻数の内訳は **Table 5-2** の通りである。5 年間のうちノシメトンボが 597 頭と最も多く、次いでアキアカネが 327 頭、ナツアカネが 50 頭、マイコアカネは 41 頭であった。マイコアカネは 2013 年に実施した補足調査においてのみ採集された。また、5 年間の調査結果の比較の際の留意点として、2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災による影響を受け、2011 年の参加圃場数は前年度比の 41%と約半分となった (**Table 5-2**)。

育苗箱施用殺虫剤を施用した水田においてアカネ属の羽化殻が確認された水田割合を **Fig. 5-3** に示し、不使用水田における羽化殻の確認割合を **Fig. 5-4** に示す。調査対象地において 2009 年、2010 年および 2011 年に施用された育苗箱施用殺虫剤は、ジノテフランを成分とする殺虫剤 (以下、「ジノテフラン」とする) であった。ジノテフランが施用された水田のうち、2009 年で 8% (2 筆)、2010 年で 21% (4 筆)、2011 年では 0% (0 筆) の水田割合でアカネ属の羽化殻が確認された。一方、不使用水田におけるアカネ属の羽化殻が確認された水田割合は、2009 年で 38% (10 筆)、2010 年では 26% (7 筆)、2011 年は 50% (8 筆) を示した。ジノテフランを施用した水田と不使用水田の羽化殻の確認割合は、2009 年において有意な差が確認された (Fisher の正確確率検定,  $P < 0.05$ )。しかし、同剤が施用された 2010 年と 2011 年においては有意な差は確認されなかった (Fisher の正確確率検定,  $P > 0.05$ )。

JA みどりの管内の環境保全米の栽培には、2012 年からネオニコチノイド系殺虫剤の施用を禁止とし、新たな指定薬剤としてジアミド系であるクロラントラニリプロールへの変更が決定され

Table 5-2. 羽化殻調査の諸元と結果  
The result and specification of exuviae survey

Property	Year					Additional survey	Total
	2009	2010	2011	2012	2013		
Number of paddy fields ( <i>N</i> )	51	46	19	24	26	18	
Date of begining of experiments	Jun-09	Jun-10	Jun-11	Jul-12	Jun-13	Jun-13	
Date of ending of experiments	Jul-09	Jul-10	Jul-11	Jul-12	Jul-13	Jul-13	
Species composition and number of hasks ( <i>N</i> )							
<i>Sympetrum darwinianum</i>	42	1	0	0	7	0	50
<i>Sympetrum infuscatum</i>	26	89	23	40	47	382	607
<i>Sympetrum frequens</i>	28	74	20	22	47	136	327
<i>Sympetrum kunckeli</i>	0	0	0	0	0	41	41

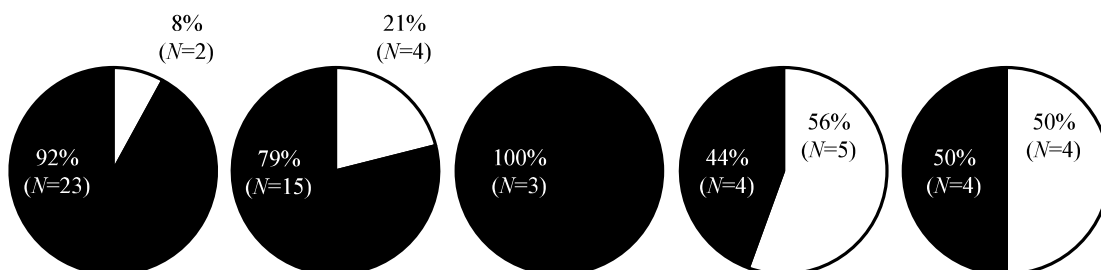


Fig. 5-3 育苗箱施用殺虫剤を施用した水田におけるアカネ属の羽化発生の有無  
 Percentage of the occurrence of *Sympetrum* spp. exuviae in the paddy field treated with nursery-box applied insecticide (Open area, found exuviae; Closed area, not found exuviae)

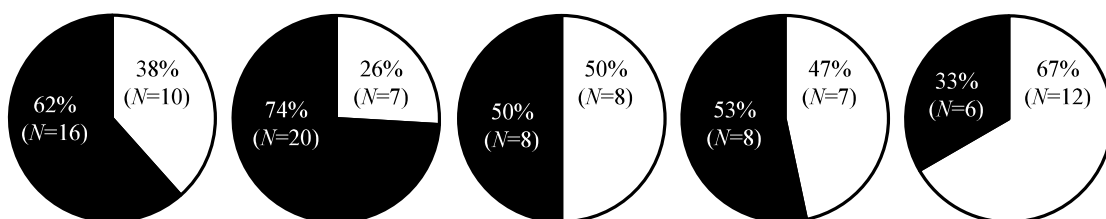


Fig. 5-4 育苗箱施用殺虫剤を施用しない水田におけるアカネ属の羽化発生の有無  
 Percentage of the occurrence of *Sympetrum* spp. exuviae in the paddy field treated with no nursery-box applied insecticide (Open area, found exuviae; Closed area, not found exuviae)



た。日本植物防疫協会（2011<sup>5-23</sup>）によると、ジアミド系殺虫剤は、カルシウムチャネルに特異的に結合することで、カルシウムイオンの細胞質への異常放出、体収縮症状、摂食活動の停止を引き起こして致死に至らしめる新規の作用機構を持つ薬剤である。加えて、哺乳動物と昆虫間、あるいは防除適応外の生物における作用点リアノジン受容体の遺伝子相同性が低いことから、哺乳動物をはじめ、害虫以外への生物に対しても影響は小さいとされている。クロラントラニプロールを施用した水田において、羽化殻が確認された水田割合は2012年では56%（5筆）、2013年で50%（4筆）となった。また、不使用水田における羽化殻の確認された水田割合は2012年で47%（7筆）、2013年で67%（12筆）となり、クロラントラニプロールを施用した水田と不使用水田における羽化殻の確認割合は、2012年と2013年共に有意な差が確認されなかった（Fisherの正確確率検定、 $P>0.05$ ）。

続いて、各年度のアカトンボの羽化密度を **Fig. 5-5** に示す。育苗箱施用殺虫剤を施用しない不使用水田区は、いずれの年においても、育苗箱施用殺虫剤を水田全面に処理した全面処理区より高い値を示した。ジノテフランが施用された2009年から2011年の3年間のうち、2009年は不使用水田区と全面処理区それぞれ1.28頭/m<sup>2</sup>と0.38頭/m<sup>2</sup>を示し、育苗箱施用殺虫剤の施用の有無における羽化密度に有意な差が確認された（Mann-Whitney U-test,  $P<0.05$ ）。2010年と2011年において有意な差は確認されなかった（Mann-Whitney U-test,  $P>0.05$ ）ものの2011年の全面処理区の羽化密度は0頭/m<sup>2</sup>であった。2012年から2013年はクロラントラニプロールが施用された。2012年と2013年における不使用水田区と全面処理区において、羽化密度に有意な差は確認されなかった（Mann-Whitney U-test,  $P>0.05$ ）。2013年から導入された額縁処理水田を額縁処理区とする。不使用水田区、額縁処理区、全面処理区の各区画における羽化密度は、1.55頭/m<sup>2</sup>、0.36頭/m<sup>2</sup>と0.39頭/m<sup>2</sup>を示したが、3区画間における密度に有意な差は確認されなかった（Kruskal-Wallis test,  $P>0.01$ ）。

### 3.3.2 額縁処理と害虫防除効果

水稻初期害虫であるイネミズゾウムシとイネドロオイムシによる食害痕は、6月6日から確認されて、6月20日に食害指数の極大値を示した。6月20日における1株当たりの平均食害指数（標準偏差）を **Fig. 5-6a** に示す。水田水口部において全面処理区、額縁処理区および不使用水田区でそれぞれ1.17（±0.04）、1.24（±0.13）、1.27（±0.09）を示した。同様に水田中央部においては全面処理区、額縁処理区および不使用水田区で1.08（±0.08）、1.14（±0.09）、1.24（±0.11）を示した。各条件区の中央部の食害指数を比較する際は、Bonferroni法を用いて、有意水準1.67%のもとで比較したところ、全面処理区、額縁処理区と不使用水田区における中央部の食害指数に有意な差は確認できなかった（Mann-Whitney U-test,  $P>0.0167$ ）。また、各処理区において水口部と中央部における食害指数に有意な差は確認されなかった（Mann-Whitney U-test,  $P>0.05$ ）。

6月27日以降はコバネイナゴの個体と食害痕が確認された。7月4日にコバネイナゴの食害痕

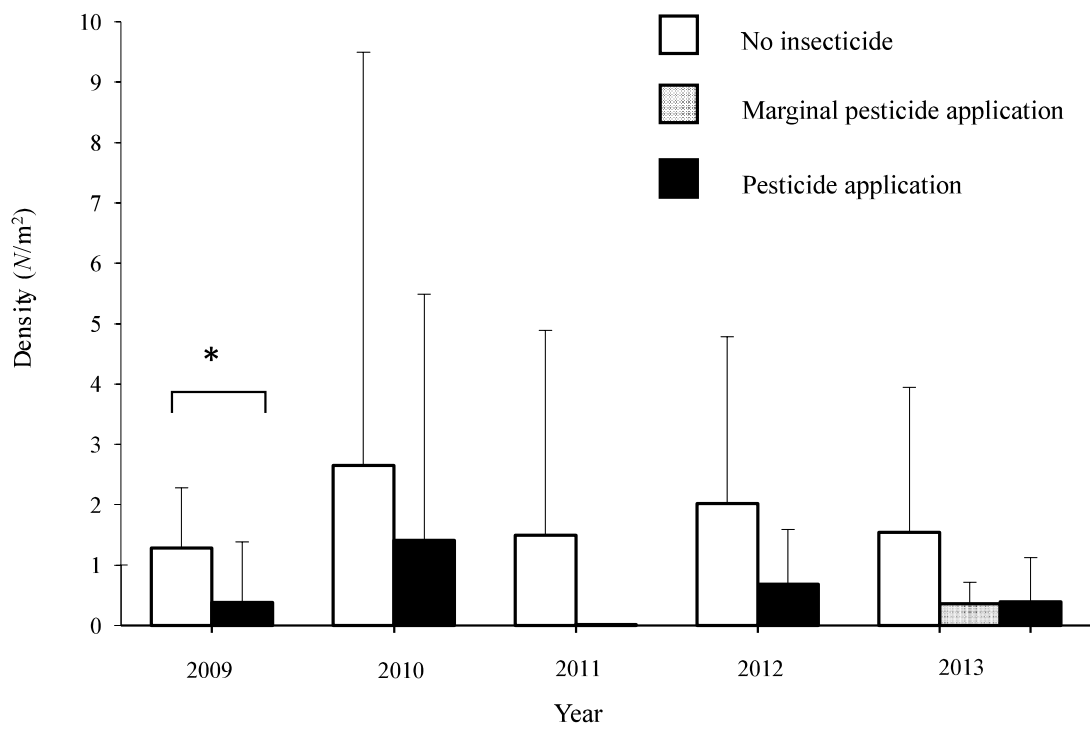


Fig. 5・5 アカネ属の羽化密度

Population density of *Sympetrum* spp. exuviae in plot field (Error bars indicate standard deviation. \* denote significant differences ( $P < 0.05$ ))

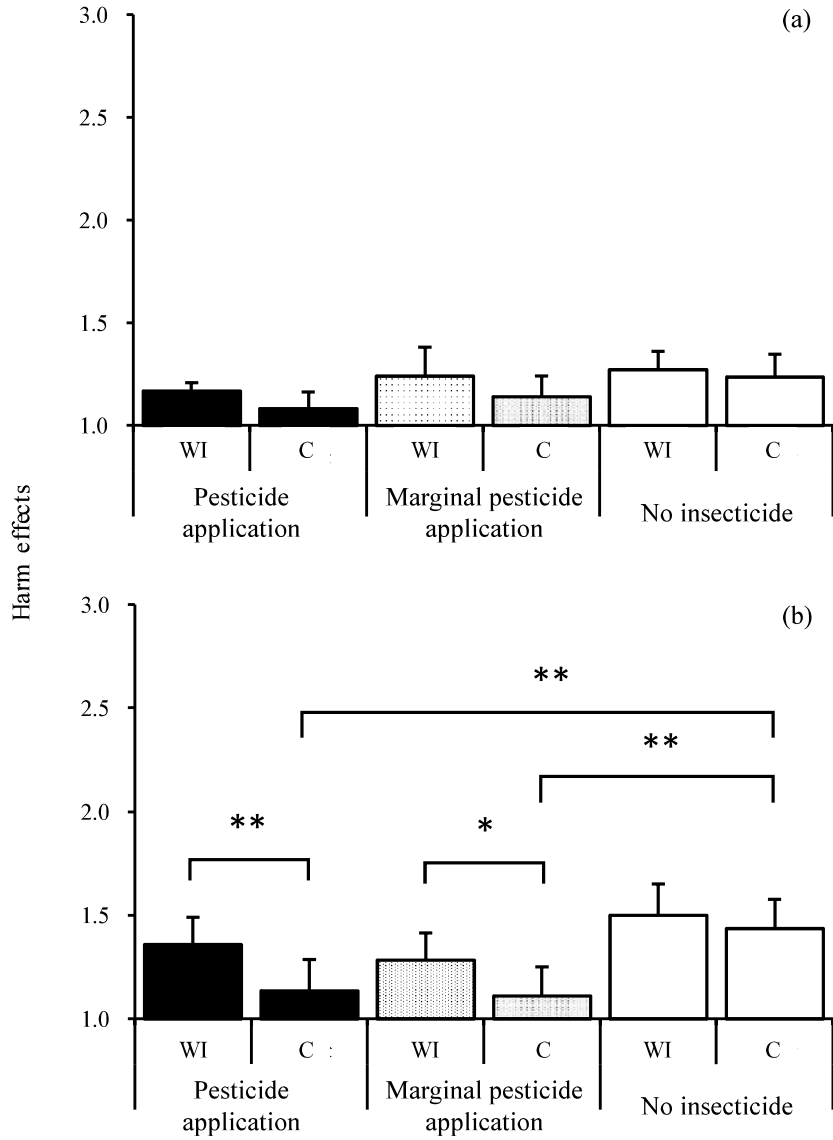


Fig. 5-6 水稲初期および水稲中期における害虫による食害指数の比較

Comparison of harm effects of rice weevils and (a) beetles, (b) beetle and grasshopper (Error bars indicate standard deviation. WI: water inlet, C: Center of paddy field. \* and \*\* denote significant differences ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ))

の極大値が確認された。7月4日の1株当たりの平均食害指数を Fig. 5-6b に示す。水田水口部において全面処理区、額縁処理区および不使用水田区でそれぞれ 1.36 ( $\pm 0.09$ ), 1.28 ( $\pm 0.14$ ), 1.50 ( $\pm 0.20$ ) を示し、同様に水田中央部においては 1.14 ( $\pm 0.09$ ), 1.11 ( $\pm 0.10$ ), 1.44 ( $\pm 0.16$ ) を示した。不使用水田区の水田中央部は、全面処理区と額縁処理区の水田中央部と比べ、食害指数が有意に高いことが認められた (Mann-Whitney U-test,  $P < 0.0167$ )。また、全面処理区と額縁処理区においては、各処理区内の水口部と中央部を比較したところ、共に水口部の食害指数は中央部よりも有意に高いことが確認された (Mann-Whitney U-test,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。

### 3.4 考察

#### 3.4.1 RAMP1 低リスク殺虫剤選択の効果

ジノテフランを成分とする育苗箱施用殺虫剤を施用すると、アカネ属の羽化殻が確認された水田割合は不使用水田と比べて低い傾向を示した。2009年から2011年にかけて、ジノテフランが施用された水田では、アカネ属の羽化殻が確認された水田割合は、0から21%の範囲に留まった。2009年においては有意な差が確認された。2010年と2011年はアカネ属の羽化殻が確認された水田割合に有意な差は確認できないものの、ジノテフランを施用するとアカネ属の羽化殻の発生密度は、不使用水田と比べて低い傾向を示した。

ジノテフランはニコチン性アセチルコリン受容体にアゴニスト作用を呈す。ジノテフランはアキアカネに対し羽化個体数の低下と頭幅の矮小化が指摘されている (Jinguji and Ueda, 2015<sup>5-24</sup>)。ジノテフランと同じネオニコチノイド系殺虫剤であるイミダクロプリドを成分とする殺虫剤 (以下、「イミダクロプリド」とする) を施用した際、ライシメータ試験におけるアキアカネとノシメトンボの羽化個体数はいずれも対照区と比べて有意に低かった (小山・城所, 2003<sup>5-12</sup>; 神宮字ら, 2009<sup>5-15</sup>; Jinguji et al., 2013<sup>5-17</sup>)。早坂ら (2013<sup>5-25</sup>) はイミダクロプリドの連続施用2年目の水田において、一般化加法モデルにおける推定結果からアカネ属を含むトンボ類幼虫の合計個体数は減少したと報告している。本林ら (2012<sup>5-26</sup>) はユスリカ類幼虫の密度が薬剤施用後7日目まで有意に低くなると述べている。ユスリカ類幼虫はアカネ属を含む水生生物の餌資源として利用されており、薬剤による餌資源を介した生物群集に対しても影響を及ぼすことが懸念される。以上から羽化殻調査の結果は、ジノテフランの施用による斃死と餌資源の低下が減少要因となり、これらの複合的な影響によりアカトンボの羽化個体数の減少を招いたと考えられる。アカトンボとアカトンボの捕食対象となる生物相への悪影響を回避するには、施用薬剤をジノテフランから変更することが有効と考えられる。

2012年以降、施用薬剤をクロラントラニリプロールに変更後は、育苗箱施用殺虫剤を施用した水田において、不使用水田と同程度の水田割合で羽化殻が確認されるようになり、その範囲は50から56%であった。このことからクロラントラニリプロールは、ネオニコチノイド系殺虫剤と比べてアカトンボに影響が小さい殺虫剤であることが示唆された。しかし、クロラントラニリプロ

ールの施用水田における羽化密度は、2012年と2013年では、それぞれ0.68頭/m<sup>2</sup>と0.39頭/m<sup>2</sup>となり、同年度の不使用水田の2.02頭/m<sup>2</sup>、1.55頭/m<sup>2</sup>に対して低い値を示したものの、羽化密度に有意な差は確認されなかった (Fig. 5-5)。今後も調査を継続し、アカトンボならびにアカトンボの捕食対象種に対する影響を鑑み、クロラントラニリプロールの影響評価を実施する必要がある。

7月からはコバネイナゴの食害が顕著になった (Fig. 5-6b)。調査期間中に最も食害を受けた処理区は、水口部と中央部共に不使用水田区であり、特に水口部の食害指数は1.50を示した。一方、全面処理区と額縁処理区においては、水口部では、不使用水田区と同様に6月20日に比べ食害指数が上昇したものの、中央部では、コバネイナゴはクロラントラニリプロールの適用害虫に含まれていないにも関わらず、不使用水田区に比べ食害指数は有意に低く、しかも6月20日とほぼ同程度のままであった。このことから、クロラントラニリプロールは水稻初期から中期においてコバネイナゴも含む害虫の防除に有効である可能性が示唆された。

収量の安定性を望む農業者の意向から育苗箱施用殺虫剤を施用する場合は、アカトンボ保全の観点から、ジノテフランを選択よりもクロラントラニリプロールを選択することが望ましいと考えられる。

### 3.4.2 RAMP2 育苗箱施用殺虫剤の額縁処理の効果

畦畔周縁部にあたる水口部の食害指数は、全面処理区、額縁処理区、不使用水田区の全区画において、中央部より高かった (Fig. 5-6a, b)。育苗箱施用殺虫剤は、水稻害虫の摂食行動に伴い、薬剤を体内へ摂取させることで害虫を致死に至らせる。圃場におけるイネミズゾウムシ (渋谷, 1991<sup>5-21</sup>, 1993<sup>5-22</sup>) とコバネイナゴ (城所・林, 2000<sup>5-20</sup>; 城所・小野, 2001<sup>5-27</sup>) の密度分布は畦畔周縁部に高いと報告されており、これら害虫の食害を多く受けたためと考えられる。また、水稻初期および中期における害虫による食害指数 (Fig. 5-6a, b) には、全面処理区と額縁処理区の中央部の間に有意な差が認められないことから、額縁処理害虫防除の有効性が示唆された。渋谷 (1993<sup>5-22</sup>) によると額縁防除の有効性については、イネミズゾウムシを対象として宮城県の実験圃場においてペンフラカルブを主成分とする育苗箱施用殺虫剤を畦畔 3.6m までの範囲に施用することで額縁防除の有効性を報告している。クロラントラニリプロールは、イネミズゾウムシを適応害虫に含むため、同剤を額縁処理した際も、イネミズゾウムシの防除は有効であると考えられる。

アカトンボの羽化密度は全面処理区と額縁処理区、不使用水田区との間に有意な差が確認されなかった (Fig. 6-5)。クロラントラニリプロールは、額縁処理の導入により、水田1筆当たりの施用量を低減させても全面処理区と額縁処理区の羽化密度は0.39頭/m<sup>2</sup>と0.36頭/m<sup>2</sup>と同程度であったことから、アカトンボに対する影響は少ない薬剤と考えられる。ただし、いずれの羽化密度も同年度の不使用水田区の1.55頭/m<sup>2</sup>と比較して低い値であったため、今後はアカトンボのみならず、アカトンボの捕食対象種に対する影響も鑑みた評価が課題である。加えて、収量調査を

実施して、育苗箱施用殺虫剤の施用条件と収量を評価することが、農業者を主体とする RAMP にとって重要な課題である。

額縁処理は、畦畔に沿う苗のみに薬剤施用する技術である。城所・林 (2000<sup>5-20</sup>) は周縁部 8 条に薬剤施用する場合、薬剤処理苗 8 条分を占める稲株の割合は、全面処理に対し 1ha 圃場で約 10% となり、施用量は 90% 削減されると報告している。このことは、今後農地集約化が推奨される昨今、額縁処理の導入は水田の大区画化にとって、減農薬に貢献する技術のみならず、生物多様性保全に取り組む水田地帯に有効な手段になると考えられる。新たなアカトンボ保全の RAMP として、他の薬剤への変更が挙げられる。例えばフィプロニルは、アカネ属に対する影響が指摘されている薬剤である (神宮宇ら, 2009<sup>5-15</sup>, 2010<sup>5-16</sup>; Jinguji et al., 2013<sup>5-17</sup>)。一方で城所・小野 (2001<sup>5-27</sup>) は、フィプロニルはコバネイナゴを防除対象に含み、額縁処理の薬剤として有効と報告している。以上から、薬剤の変更に加え、額縁処理に代表される 1 筆当たりの施用量を減らした栽培管理の現場導入が期待される。

### 3.5 まとめ

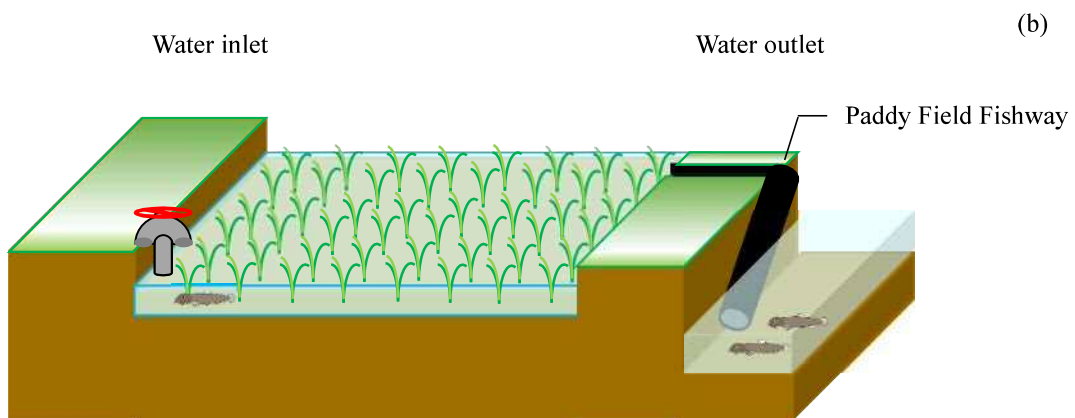
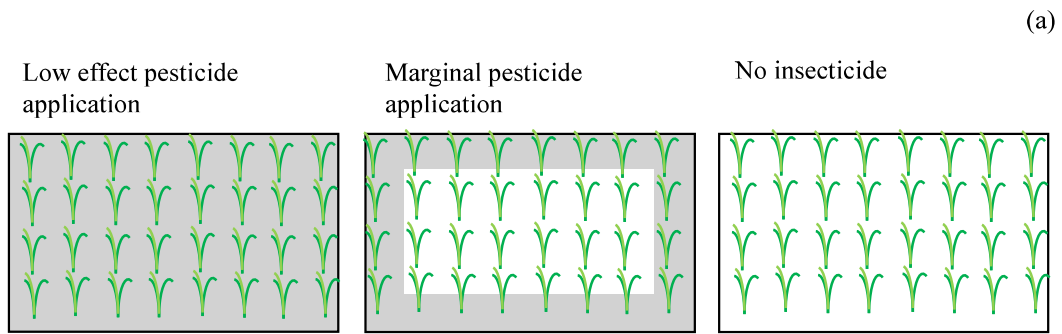
本研究では、宮城県大崎市旧田尻町内の水田地帯において、農業者を主体としたアカトンボの羽化殻採集調査と栽培管理アンケート調査を実施した。

ネオニコチノイド系殺虫剤であるジノテフランを施用した 2009 年から 2011 年は、殺虫剤を施用した水田ではアカネ属の羽化殻が確認される水田割合は不使用水田より低く、2 割程度であった。この結果を踏まえ、2012 年から、JA みどりの管内の環境保全米の栽培にはネオニコチノイド系殺虫剤の施用が禁止となり、施用する薬剤をクロラントラニプロールに変更し、羽化殻の確認割合は不使用水田と同程度となった。また、2013 年からは額縁処理を導入し、羽化発生密度と食害指数は、全面処理区と比べて同程度となった。いずれの栽培技術もアカトンボにとって育苗箱施用殺虫剤のリスクの低減に有効であり、営農の面からも有効な技術であると考えられる。

## 第 4 節 今後の展望

### 4.1 ドジョウの保全に資する育苗箱施用殺虫剤の選定・施用方法

ドジョウの保全に向けた RAMP の概要を Fig. 5-7 と Fig. 5-8 に示す。クロラントラニプロールは、ドジョウやアカトンボに対して、比較的に影響の低い薬剤であることが示された (第 4 章, 本章 第 2 節)。まずは、現行の使用薬剤を低リスクの殺虫剤へと変更することが、予防的措置 (Precautionary principle) として、育苗箱施用殺虫剤を不使用と決定するよりも、農業者に対して比較的抵抗なく、栽培管理へ導入してもらうことが可能であると考えられる (Fig. 5-7a)。また、額縁処理を導入することにより、1ha 圃場あたり薬剤施用量を約 90% 削減しつつ、害虫防除の効果が期待できることが明らかとなった。この栽培方法は、そのままドジョウの保全に向けた栽培管理として提唱できるものであると考えられる。



- Survey of loach's immigration
- Survey of loach's migration and breeding
- Observation of loach's ascend fishway

Fig. 5-7 水稻栽培におけるドジョウの保全に向けた RAMP の概要

The outline of RAMP for conservation of loaches in paddy field (a: the list of nursery-box applied insecticide usage, b: collection of loach's data from farmland for farmers)

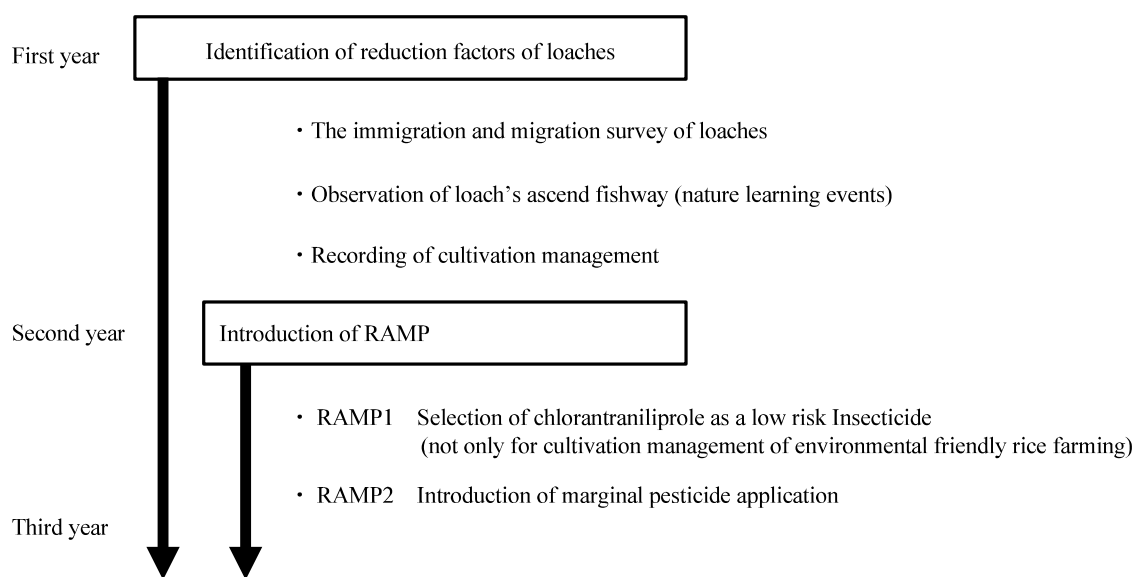


Fig. 5-8 ドジョウ保全のための RAMP の概要  
The outline of RAMP for conservation of loaches



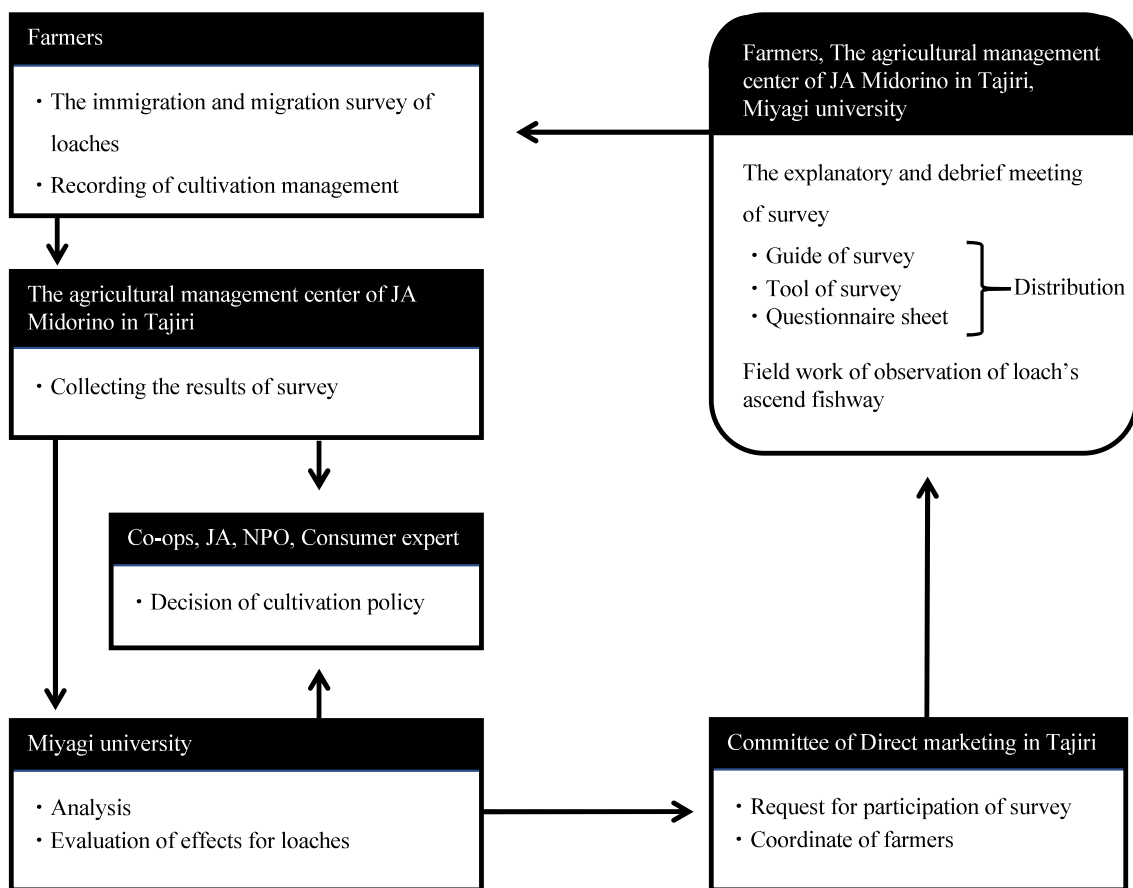


Fig. 5・9 ドジョウ保全のための RAMP の活動組織の概要

The outline of organization activities for RAMP for conservation of loaches

## 4.2 ドジョウの保全を目的とした RAMP に向けて

本章の第 2 節では、アカトンボ保全のための RAMP として、農業者が直接、羽化殻調査に携わることにより、農業者自身の栽培管理とアカトンボの羽化発生状況とを参照し、その結果、保全策である低リスク殺虫剤の選択と額縁処理が現場へ導入されるようになった。このことから、保全策の重要性の周知のためにも、調査は研究者だけでなく、当事者である農業者が携わるとは非常に重要と考えられる。そこで、ドジョウの保全のための意識付けのために、農業者に対して、参加型調査を提案し、RAMP の一貫に加えた (Fig. 5-7b)。この RAMP 実施の活動組織として、これまでアカトンボ調査に協力してくれた宮城県大崎市の田尻地域に引き続き、調査の延長線上として実施を想定して、RAMP を提案した (Fig. 5-9)。

まずは、水田にどの程度の個体数のドジョウが侵入して、水田内に生息しているか実感してもらう必要がある。ドジョウは土壌中に潜み、越冬するため、本種の生息状況は目視での観察が困難であると考えられる。第 2 章では、パイプライン化された水田土壌においても本種の生息が確認されている。そのため、まずは取水形態を問わず、水稻栽培の水入れ時期の取水口の開放の際に水口の取水口にウケを設置し、取水口を閉鎖する際にウケを回収し、個体数を調べてもらう。ドジョウが取水に伴い侵入する時期は、皆川ら (2006<sup>5-29</sup>) によると取水 5 日以内に開始し、中干し前まで継続的に侵入すると報告されている。農業者の負担も考慮し、取水日開始日から 10 日間までを調査期間と定め、10 日間の内、取水の度に調査を実施することが望ましいと考えられる。水田から脱出する個体を把握するために、農業者が中干しの落水作業を実施する際、落水初日から中干し終了まで、水尻の排水口にウケを設置して、1 日ごとに採取を実施してもらう。また、各調査で採捕されたドジョウの計測は、作業の簡略化を目的として、撮影された写真解析によって体長の推定と個体数計測とするのが望ましい。その方法として、バットの受けの隅にスケールを設けて、目盛りが重ならないようにバットへ個体を移し、バットの真上から写真を撮影する。分析は、後日、大学の研究室が体長の推定と個体数の計測を担当し、実施することが望ましいと考える。

現在、我が国で流通している育苗箱施用殺虫剤のドジョウに対する魚毒性は比較的小さく、致死影響が確認されることは少ないと考えられる (第 3 章, 第 4 章)。一方で、第 4 章では育苗箱施用殺虫剤の亜致死影響のエンドポイントとして、ドジョウの遊泳能力を観察することが有効であることが示された。近年では、小規模水田魚道 (以下、水田魚道とする) を設けて、水田と排水路の水域ネットワークの復元が試みられている。そこで、ドジョウの遊泳能力の観察場として、水田魚道を提案する。ただし水田魚道には複数の種類が存在し、例えば、開条件である千鳥 X 型魚道 (鈴木, 2000<sup>5-29</sup>) やカスケード M 型魚道 (鈴木, 2000<sup>5-29</sup>) がそれに該当する。この魚道では、魚道上方から定点カメラを用いた観測が可能となる。一方で、ドジョウの移動は、暗条件を好み、陰性走行性 (Negative phototaxis) を示すとの報告 (久保田, 1961<sup>5-30</sup>) もあり、また、安価な水田魚道の材として、閉条件である波付き管 (コルゲート管) が代用されることもある (佐藤, 2010<sup>5-31</sup>)。この場合の対応として、まず目視やビデオ撮影によるドジョウの遊泳行動を確認することは、

困難である。そこで、魚が電極上を通過する際に生じる電極間の電気抵抗の差を利用し、遡上個体数が計測可能な電気伝導度方式の自動計数システムが開発されている(斎藤ら, 2012<sup>5-32</sup>)。斎藤ら(2012<sup>5-32</sup>)は、この自動計数システムに充電式バッテリーを設け、最大約 79 時間の連続計測が可能である。このシステムでは、感電反応から設定電圧が 0.9V となり、その結果、体長 5cm 以上の個体しか計数できない(斎藤ら, 2012<sup>5-32</sup>)。しかし、この大きさのドジョウは水稻初期に侵入すると考えられる個体に該当するため、遡上の評価には十分であると考えられる。また、魚道の最上部に定置網を設けることにより、直接遡上した魚類を確認できると考えられる。施用薬剤の条件の違いによって、本種を含む淡水魚類の遡上数に違いについても、これらの遡上調査から確認することが実施できるものであると考えられる。

### 4.3 今後の課題

ドジョウの保全に向けた RAMP の導入は、研究者と農業者ならびに JA 等の受益者との 2 極化となり、単なる研究者側の押し付けとならないように、常に各組織の立場が対等となるように心がけないといけない。この点を考慮すると、試験候補地としては、まずは研究組織側と縁のある地域を候補地であることが望ましい。そして、RAMP の早期段階(例えば、実施の打ち合わせの段階)から関係者が揃い、各組織と横との繋がりを保持しつつ、施策を実施していくことが求められる。また、実施の途中に問題点が生じた場合には、各関係者で話し合い、解決策を模索することも RAMP の過程では重要であると考えられる。順応的に対応し、保全目標に到達する工夫が求められる。

## 摘要

水稲栽培の歴史はこれまでに約 1 万年にもおよび、水田は、人間の食糧生産の場のみならず、文化的側面に多大な貢献をしてきた。水田は、河川氾濫源に形成された後背湿地などの一時的水域を利用する生物種に対して、生息場を提供する人工湿地として捉えることができるため、近年急速に減少している湿地環境の代替として機能するとともに、生物多様性のホットスポットの一つとされている。

ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* は、コイ目ドジョウ科に属する淡水魚であり、日本全土、台湾、中国大陸及び朝鮮半島に広く分布している。また、本種は郷土料理の食材として利用されているだけでなく、水田環境のアンブレラ種である大型鳥類の餌資源として利用されていることが知られており、現在、佐渡市と豊岡市で取り組まれている絶滅危惧種であるトキ (*Nipponia nippon*) やコウノトリ (*Ciconia boyciana*) の餌資源であるため、これらの希少種の野生復帰にとって水田内のドジョウの個体数と生産量の増加は重要な課題とされている。本種の特徴的な生態としては、鰓呼吸、皮膚呼吸と腸呼吸を行うため、水中のみならず、落水時には土壤中に潜り、生存することが可能な点である。すなわち水田においては、落水後も土壤中に潜り、越冬時に水田の土壤中に分布していることが考えられる。このように水田環境の一般種である本種は、農薬により生息環境の悪化が指摘されているものの、近年主流の農薬に対する影響評価に関する報告は非常に乏しい。

我が国における生態毒性評価の手法は、OECD（経済協力開発機構）が定めるテストガイドラインに準じて、藻類・甲殻類・魚類の 3 種について培養・飼育槽内に試験物質を加えて致死影響をエンドポイントするものであり、亜致死影響ならびに野外環境の生態系における栄養フローに代表される複雑な評価は、反映されないという問題点がある。

以下に本研究で得られた主な結論と要約を述べて、本研究のまとめとする。

第 1 章では、本研究の社会的背景および目的について概説し、論文構成内容を紹介した。まず第 2 章では、水田に越冬するドジョウの分布と体長組成を把握し、供試個体の体長を決定するために、宮城県大崎市田尻地域の春耕起前の水田 20 筆を対象に発掘調査を行った。水口と水尻部の畦畔沿いの水溜りが形成されている箇所からは、標準体長(以下, SL)が平均 58mm (35~82mm) の個体が採捕された。つまり、水田内には未成魚 ( $50 \leq SL < 80\text{mm}$ ) が優先的に分布し、また成魚 ( $80\text{mm} < SL$ ) も越冬していることが明らかとなった。このことから、ドジョウの未成魚と成魚は、育苗箱施用殺虫剤の散布当初から曝露される可能性を有することが示唆された。

第 3 章では、育苗箱施用殺虫剤の致死的影響と亜致死的影響を把握するために、ドジョウの生物学的最小形として未成魚と繁殖に寄与する成魚を対象に小型ライシメータおよび実験圃場を用いたマイクロコスムとマクロコスム試験を行い、育苗箱施用殺虫剤の暴露によるドジョウへの生態毒性評価を実施した。初年度は供試個体に未成魚を使用し、イミダクロプリド、クロラントラニリプロール、カルタップおよびフィプロニルの 4 剤について、斃死、肥満度と生殖腺指数の

3 項目から生態毒性評価をした。次年度には成魚の個体を使用して、4 剤のうちのクロラントラニプロールとフィプロニルの 2 剤を対象に試験を実施した。その結果、供試個体の斃死は全ての試験区において確認されずに致死性が低いことが明らかとなった。しかし、亜致死影響として、雌の未成魚に対してフィプロニルの暴露環境下において、対照区比で生殖腺指数の低下が確認された。一方で成熟個体においては、生殖腺指数の低下が確認されなかった。この低下については、給餌した成魚では確認されず、以上から、フィプロニルは未成魚の雌ドジョウに対して生殖腺の発達に影響を与え、結果として個体数減少に関わる可能性があると考えられた。

第 4 章では、亜致死的影響と間接的影響に焦点を当てて、室内におけるマイクロコスム試験と野外におけるメソコスム試験を行い評価した。マイクロコスム試験では、イミダクロプリドとフィプロニルを対象に円形水槽を用いた 96 時間毒性試験と遊泳試験を実施した。また、メソコスム試験では 300L のメソコスムタンクを試験容器に用いて、育苗箱施用殺虫剤のクロラントラニプロールとフィプロニルの 2 剤による未成魚から成魚 (SL: 50~109 mm) を投入し、影響評価に加え、PRC 解析を用いてドジョウの餌資源である水生生物種を含めた生物群集への影響を評価した。この結果、イミダクロプリド処理区では 1000 µg/L 濃度区、フィプロニル条件下では、100µg/L 濃度下でも 96 時間毒性試験で致死には至らなかった。しかし、フィプロニル処理区における個体は、対照区比で遊泳阻害が生じることが確認された。また、メソコスム試験において、ドジョウに対する致死性は低いことが示唆された。ただし、クロラントラニプロールとフィプロニルは、施用から 140 日経過後も土壌中に残留していた。PRC 解析の結果、フィプロニル条件下ではコカゲロウ科コカゲロウ若虫がコントロール比で減少していることが明らかとなった。

最後に第 5 章では、現場への保全策の導入を目的として、ドジョウの保全と個体数回復に資する育苗箱施用殺虫剤の選定と実際に農業者に薬剤が選択されて、導入されるまでの過程を想定し提案をした。ここでは農業者が栽培管理と生物モニタリング調査をおこない、保全対象種の保全を目的に育苗箱施用殺虫剤の薬剤が変更された事例から考察を加えて、提案を行った。

以上のことから、本研究の成果は、従来のドジョウの保全のみならず、水田を利用する魚種に対する水稲用農薬の評価手法へとつながることにより、わが国の安全な農薬使用と生態系保全への貢献させることが示唆された。

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり，卒業生から6年間に渡りまして終始懇切なるご指導，ご助言を賜りました本学の神宮宇寛教授をはじめとする諸先生方に心から感謝の意を表します。

公益財団法人 伊豆沼・内沼環境保全財団の藤本泰文研究員，農業・食品産業技術総合研究機構 農業環境変動研究センターの大津和久主任研究員，本学の原田茂樹教授と富樫千之教授には本論文の審査をお引き受け下さり，ご指導，ご助言賜りました。心より感謝いたします。研究の当初から本論文をまとめるまで，長期にわたり研究の相談および精神的な支えになって頂き，心より感謝の意を表します。

公益財団法人 伊豆沼・内沼環境保全財団の研究員の皆様，伊豆沼・内沼ドジョウ・ナマズ研究会の三塚牧夫氏には，本研究に対して，研究当初から水田環境に生息する魚類の生態から採捕に関して有益なるご意見やご指導頂きました。心より感謝の意を表します。

国立環境研究所の生物・生態系環境研究センター 生態リスク評価・対策研究室の降幡駿介氏には，メソコスム試験に使用する材料を提供して頂きました。また，調査のアドバイスや解析に関する助言を頂きました。心より感謝の意を表します。

みどりの農業協同組合の田尻営農センターの職員および農業者の方々には，春季のドジョウの越冬個体調査をはじめとする生物調査を実施するにあたりまして，試験圃場の提供から，栽培管理の情報まで提供いただきました。特に阿部 晃氏と佐野 巖氏には，農業者に対して調査実施の呼びかけていただき，調査の調整等のフィールド試験について多大なご協力を頂きました。心より感謝の意を表します。

本研究は本学農村生態工学研究室に在籍し，卒業していった多くの学生諸氏に支えられて行ったものであります。毎年，調査に協力してくれた齋藤四海智氏，今野智貴氏をはじめ，特に卒業生の伊藤美寿々氏，菊地仙大氏と佐藤誠也氏には，梅雨時期で大雨が降る中，雨ガッパを着用して現地へと向かい，夏の暑く日差しが照りつける中，実験圃場で夕方まで調査し，結果の取りまとめには夜遅く研究室に残る等，研究に携わってくれました。また，共に博士論文の作製に苦勞した本学同期の石川潤一氏，高橋睦子氏と松田圭二氏に心から感謝申し上げます。

最後に，これまで生活面・精神面ともに長年に渡り支えてくれた父 隆利，母 亮子，祖母の利久とハルヨ，妹 菜月と弟 隆大，親戚一同の方々に心から感謝します。誠にありがとうございました。

# 本研究の関連査読論文および発表論文

## 本研究の関連査読論文

宮井克弥, 神宮字寛 (2016) ドジョウに対する育苗箱施用殺虫剤 4 剤の生態毒性評価, 農業農村工学会論文集, 303(84-3), IV\_11-IV\_12.

宮井克弥, 齋藤満保, 神宮字寛 (2016) 赤トンボ保全のための農業者を主体としたリスクアセスメントミティゲーションプログラムの開発と実践, 農業農村工学会論文集, 303(84-3), I\_201-207.

## 本研究の関連研究報告(国内学会における発表(口頭発表 査読無し))

○宮井克弥, 三橋唯, 神宮字寛, 農業者を主体としてリスクアセスメントミティゲーションプログラムの開発—赤とんぼを指標とした水田環境再生の事例報告—. 自然環境復元学会全国大会講演要旨集, 13, pp11-12, 東京, 2013・3

○宮井克弥, 三橋唯, 神宮字寛, 農業者を主体としたリスクアセスメントミティゲーションプログラムの開発. 農業農村工学会大会講演会講演要旨集, pp246-247, 東京, 2013・8

齋藤四海智, 山内里香, ○宮井克弥, 神宮字寛, フェルテラ育苗箱施用殺虫剤の毒性評価実験. 農業農村工学会大会講演会講演要旨集(CD-ROM), ROMBUNNO.2-49(P), 新潟, 2014・8

○宮井克弥・神宮字寛, 赤トンボ保全のための農業者を主体としたリスクアセスメントミティゲーションプログラムの開発. 農業農村工学会大会講演会講演要旨集(CD-ROM), ROMBUNNO.2-16, 新潟, 2014・8

○宮井克弥・神宮字寛, ドジョウを対象とした育苗箱施用殺虫剤の毒性評価試験. 農業農村工学会東北支部研究発表会講演要旨集, 57, pp188-189, 仙台, 2014・10

○宮井克弥・神宮字寛, ドジョウを対象とした育苗箱施用殺虫剤 4 剤の毒性評価試験. 日本生態学会東北支部, 盛岡, 2014・12

○宮井克弥・神宮字寛, ドジョウを対象とした育苗箱施用殺虫剤の生態毒性評価. 農業農村工学会全

国大会，岡山，2015・9

○宮井克弥・神宮字寛，成熟ドジョウを対象とした育苗箱施用殺虫剤2剤の生態毒性評価．農業農村工学会東北支部，福島，2015・10

○宮井克弥・菊池仙大・神宮字寛，ドジョウを対象とした育苗箱施用殺虫剤の影響評価と評価手法の検討．日本水環境学会第3回東北支部研究発表会，2016・1

○Katsuya MIYAI, Hiroshi JINGUJI, Ecotoxicological Evaluation of Four Nursery-box Applied Insecticides on Weather loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). The 7<sup>th</sup> EAFES International Congress, pp ,184, Daegu, 2016・4

#### その他(受賞歴)

宮井克弥，三橋唯，神宮字寛・・・「自然環境復元学会第13回全国大会 若手優秀発表賞」，2013年2月

宮井克弥，神宮字寛・・・「平成26年度農業農村工学会東北支部宮城大会 奨励賞」，2015年10月

宮井克弥，菊池仙大，神宮字寛・・・「平成27年度水環境学会東北支部大会 奨励賞」2016年1月

Katsuya MIYAI, Hiroshi JINGUJI・・・「The 7<sup>th</sup> EAFES International congress Best poster award」2016年4月



# 文献

## 第 1 章

- 1-1) USDA (2016) Rice: world markets and trade. United States Department of Agriculture, 9-14.  
(参照 2016-11-24 : <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf>)
- 1-2) Bloom, D.E. (2011) Seven billion and counting. *Science*, **333**, 562-569.
- 1-3) 農林水産省 (2016a) 作付別作付 (栽培) 面積, 農林水産省.
- 1-4) 農林水産省 (2016b) 水陸稲の時期別作柄及び収穫量 (全国農業地域別・都道府県別) - 水稲, 農林水産省.
- 1-5) Finlayson, C.M., D’Cruz, R., Aladin, N., Barker, D.R., Beltram, G., Brouwer, J., Davidson, N., Duker, L., Junk, W., Kaplowitz, M.D., Ketelaars, H., Kreuzberg-Mukhina, E., Lanza-Espino, G., Leveque, C., Lopez, A., Milton, R.G., Mirabzadeh, P., Pritchard, D., Revenga, C., Rivera, M., Hussainy, A.S., Silvius, M., Steinkamp, M., Aparin, V., Bykova, E., Calderon, J.L.G, Gorelkin, N., Hagemeyer, W., Kreuzberg, A., Rodríguez, E.M., Mirabdullaev, I., Mumba, M., Plotnikov, I., Talskykh, V. and Toryannikova, R. (2005) Inland Water Systems. “Hassan, R., Scholes, R. and Ash, N. Eds”, *Millennium Ecosystem Assessment*, Island Press, Washington, 551-583.
- 1-6) FAO STAT (2004) Crop: rice, paddy. FAO Statistical Databases.  
(参照 2016-11-24 : <http://www.fao.org/faostat/>)
- 1-7) Greenland, D.J. (1997) The sustainability of rice farming. CAB International Publishing, Wallingford.
- 1-8) 西田謙太郎 (2013) 生物多様性と生態系サービスの経済学, 昭和堂.
- 1-9) 日本学術会議 (2001) 地球環境・人間生活にかかわる農業及び森林の多面的な機能の評価について (答申), 日本学術会議, 東京.
- 1-10) Fernando, C.H., Furtado, J.I. and Lim, R.P. (1979). The aquatic fauna of the world’s rice fields: a general introduction and bibliography of references to the aquatic fauna of rice fields with an introduction to the ecology of the rice field fauna. *Wallaceana Supplement*, Kuala Lumpur, **2**, 1-105.
- 1-11) Miller, R.R., Williams, J.D. and Williams J.E. (1989) Extinctions of north american fishes during the past century. *Fisheries*, **14**, 22-38.
- 1-12) Brouder, S.M. and Hill, J.E. (1995) Winter flooding of ricelands provides waterfowl habitat. *California Agriculture*, **49**, 58-64.
- 1-13) Elphick, C.S. and Oring, L.W. (1998) Winter management of californian rice fields for waterbirds. *Journal of Applied Ecology*, **35**, 95-108.
- 1-14) Elphick, C.S. and Oring, L.W. (2003) Conservation implications of flooding rice fields on winter

- waterbird communities. *Agriculture Ecosystems and Environment*, **94**, 17-29.
- 1-15) Czech, H.A. and Parsons, K.C. (2002) Agricultural wetlands and waterbirds: a review. *Waterbirds*, **25**, 56-65.
- 1-16) Bambaradeniya, C.N.B. and Amerasinghe, F.P. (2003) Biodiversity associated with the rice field agroecosystem in Asian countries: a brief review. *International Water Management Institute*, **63**, 1-29.
- 1-17) Nelson, J.S. (2006) Numbers. *Fishes of the World, Fourth Edition*, John Wiley & Sons, NJ. 2-5p.
- 1-18) Burhanuddin, M.N. (1993) Use and management of riverine wetlands and rice fields in Peninsula Malaysia. *Towards Wise Use of Asian Wetlands*, Isozaki H, Ando M, Natori Y (eds), International Lake Environment Committee Foundation, Japan, 10.
- 1-19) Halwart, M. and Gupta, M.V. (2004) Culture of fish in rice fields. WorldFish Center, Penang.
- 1-20) Little, D.C., Surintaraseree, P. and Innes-Taylor, N. (1996) - Fish Culture in Rainfed Rice Fields of Northeast Thailand. *Aquaculture*, **140**(4), 295-321.
- 1-21) Ardiwinata, R.O. (1957) Fish culture on paddy fields in Indonesia. *Proceeding of the Indo-Pacific Fisheries Council*, **7**, 119-154.
- 1-22) Coche, A.G. (1967) Fish culture in rice fields a world-wide synthesis. *Hydrobiologia*, **30**(1), 1-44.
- 1-23) Malmqvist, B. and Rundle, S. (2002) Threats to the running water ecosystems of the world. *Environmental Conservation*, **29**(2), 134-153.
- 1-24) Coreil, P. (1993) Wetland function and Values in Louisiana. LSU Agricultural Center and Louisiana Sea Grant College Program, Booklet, 1-13.
- 1-25) FAO (2013) Cultured Aquatic Species Information Programme : *Procambarus clarkii* (Girard, 1852). Fisheries and Aquaculture Department.  
(参照 2016-12-08 : [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Procambarus\\_clarkii/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Procambarus_clarkii/en).)
- 1-26) 環境省自然環境局 (2010) アメリカ・ルイジアナ州：水田、畑、二次林などの持続的利用と生物多様性，平成 20 年度「SATOYAMA イニシアティブ検討業務」報告書。 1-11。  
(参照 2016-12-10 : [https://www.env.go.jp/nature/satoyama/syuhourei/pdf/cwj\\_41.pdf](https://www.env.go.jp/nature/satoyama/syuhourei/pdf/cwj_41.pdf))
- 1-27) Stout, M.J., Hummel, N.A., Lanka, S.K., Hamm, J.C., Mészáros, A., McClain, W.R., Frey, M.J. and Barbee, G.C. (2011) Making Rice Fields Safe for Crawfish. *Louisiana Agriculture*, **54**(3),13
- 1-28) Brady, S. (2013) Incidental Aquaculture in California's Rice Paddies: Red Swamp Crawfish. *Geographical Review*, **103**(3), 336-354.
- 1-29) Sun, Y., Skidmore, A. K., Wang, T., van Gils, H. A., Wang, Q., Qing, B., and Ding, C. (2014). Reduced dependence of Crested Ibis on winter-flooded rice fields: Implications for their conservation. *PloS one*, **9**(5), e98690.

- 1-30) Hu, C.S., Song, X., Ding, C.Q., Ye, Y.X., Qing, B.P., and Wang, C. (2016) The Size of Winter-Flooded Paddy Fields No Longer Limits the Foraging Habitat Use of the Endangered Crested Ibis (*Nipponia nippon*) in Winter. *Zoological Science*, **33**(4), 345-351.
- 1-31) 農林水産省 (2014) 有機農業の推進に関する基本的な方針の公表について, 農林水産省.  
(参照 2016-12-13 : <http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/yuuki/pdf/d-4.pdf>)
- 1-32) 農林水産省 (1992) 農林水産省「新しい食料・農業・農村政策の方向」, 農林統計調査, 農林統計協会 編. **42**(7), 34-45.
- 1-33) 宇留間悠香, 小林頼太, 西嶋翔太, 宮下 直 (2012) 空間構造を考慮した環境保全型農業の影響評価: 佐渡島における両生類の事例, *保全生態学研究*, **17**(2), 155-164.
- 1-34) Natuhara, Y. (2013) Ecosystem services by paddy fields as substitutes of natural wetlands in Japan. *Ecological engineering*, **56**, 97-106.
- 1-35) 菊池直樹 (2012) 兵庫県豊岡市における「コウノトリ育む農法」に取り組む農業者に対する聞き取り調査報告, *野生復帰*, **2**, 103-119.
- 1-36) 滋賀県 (2016) 魚のゆりかごプロジェクト: これまでの取り組み経過.  
(参照 2016-12-06 : <http://www.pref.shiga.lg.jp/g/noson/fish-cradle/7-past/index.html>)
- 1-37) 中西 悠, 井手慎司 (2014) 魚のゆりかご水田プロジェクト実施地域の類型化と実施水田面積拡大のための方策の考察. *土木学会論文集, G (環境)*, **70**(6), II 151-158.
- 1-38) Small, E. (2011) The new Noah's Ark: beautiful and useful species only. Part 1. Biodiversity conservation issues and priorities. *Biodiversity*, **12**(4), 232-247.
- 1-39) Small, E. (2012) The new Noah's Ark: beautiful and useful species only. Part 2. The chosen species. *Biodiversity*, **13**(1), 37-53.
- 1-40) Papadopoulou-Mourkidou, E., Karpouzas, D. G., Patsias, J., Kotopoulou, A., Milothridou, A., Kintzikoglou, K., & Vlachou, P. (2004a) The potential of pesticides to contaminate the groundwater resources of the Axios river basin in Macedonia, Northern Greece. Part I. Monitoring study in the north part of the basin. *Science of the Total Environment*, **321**(1), 127-146.
- 1-41) Papadopoulou-Mourkidou, E., Karpouzas, D. G., Patsias, J., Kotopoulou, A., Milothridou, A., Kintzikoglou, K., & Vlachou, P. (2004b) The potential of pesticides to contaminate the groundwater resources of the Axios river basin. Part II. Monitoring study in the south part of the basin. *Science of the total environment*, **321**(1), 147-164.
- 1-42) Sudo, M., Kunimatsu, T., and Okubo, T. (2002) Concentration and loading of pesticide residues in Lake Biwa basin (Japan). *Water Research*, **36**(1), 315-329.
- 1-43) Teng, M., Zhang, H., Fu, Q., Lu, X., Chen, J., and Wei, F. (2013) Irrigation-induced pollution of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in paddy field ecosystem of Liaohu River Plain, China. *Chinese Science Bulletin*, **58**(15), 1751-1759.
- 1-44) Lamers, M., Anyusheva, M., La, N., Nguyen, V. V., and Streck, T. (2011) Pesticide Pollution

- in Surface-and Groundwater by Paddy Rice Cultivation: A Case Study from Northern Vietnam. *Clean-Soil, Air, Water*, **39**(4), 356-361.
- 1-45) 畠山成久 (1998) 生態系の機能に基づいた試験生物とその試験法に関して, *環境毒性学会誌*, **1**(1), 51-64.
- 1-46) 鷺谷いづみ, 矢原徹一 (1996) 3. 種の機能と指標性, 保全生態学入門-遺伝子から景観まで, 文一総合出版, 63-69.
- 1-47) Noss, R. F. (1990) Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation biology*, **4**(4), 355-364.
- 1-48) OECD (2016) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. (参照 2016-12-14 : <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>)
- 1-49) Sánchez-Bayo, F. (2014). The trouble with neonicotinoids. *Science*, **346**(6211), 806-807.
- 1-50) 西内康浩, 吉田孝二 (1971) 農薬のオタマジックシに及ぼす影響, *農薬生産技術*, **26**, 29-36.
- 1-51) 西内康浩, 吉田孝二 (1972) 農薬のオタマジックシに及ぼす影響 (第2報), *農薬生産技術*, **29**, 23-28.
- 1-52) 西内康浩 (1972) 数種水産動物に対する農薬の影響, *農薬検査所報告*, **12**, 122-125
- 1-53) 西内康浩 (1981) 農薬の水生動物に対する影響評価-I 数種水生昆虫に対する農薬の影響, *生態化学*, **4**(2), 31-46.
- 1-54) 西内康浩 (1989) 農薬の水生動物に対する影響評価-XI 農薬のオタマジックシへの影響, *生態化学*, **9**(4), 23-25.
- 1-55) 早川泰弘 (2006) 生態影響評価の観点を取り入れた農薬登録保留基準の改定, *Journal of Pesticide Science*, **31**(1), 64-69.
- 1-56) 五箇公一, 早坂大亮 (2013) 農薬の生態リスク評価は生物多様性を守れるか?: 高次リスク評価法としてのメソコズム試験を通して, *環境毒性学会誌*, **16**(2), 21-28.
- 1-57) 神宮宇寛, 上田哲行, 五箇公一, 日鷹一雅, 松良俊明 (2009) フィプロニルとイミダクロプリドを成分とする育苗箱施用殺虫剤がアキアカネの幼虫と羽化に及ぼす影響. *農業農村工学会論文集*, **259**, 35-41.
- 1-58) OECD (2012) Deletion of OECD TG 204 , OECD Series on Testing and Assessment Fish Toxicity Testing Framework.169p.
- 1-59) 早坂大亮 (2014) 水田メソコズムによる生物群集に及ぼす殺虫剤の影響に関する研究, *日本農薬学会誌*, **39**(2), 108-114.
- 1-60) 堀本理華, 北野紀子, 鷺谷いづみ (2013) 参加型モニタリングプログラムを活用したセイヨウオオマルハナバチ対策: 継続参加者の役割と運営者からの情報発信の意義, *保全生態学研究*, **18**(2), 213-224.
- 1-61) Kendall, W. L., Peterjohn, B. G., & Sauer, J. R. (1996) First-time observer effects in the North

American breeding bird survey. *The Auk*, 823-829.

- 1-62) Jiguet, F. (2009) Method learning caused a first-time observer effect in a newly started breeding bird survey. *Bird Study*, **56**(2), 253-258.
- 1-63) 栗生田忠雄, 片野 海, 遠山和成, 神宮字 寛 (2013) 赤トンボの羽化殻を指標とした市民参加型の水田環境評価, *新潟大学農学部研究報告*, **65**(2), 131-135.
- 1-64) 宮地傳三郎, 川那辺浩哉, 水野信彦 (1976) ドジョウ, 原色日本淡水魚類図鑑 全改訂新版, 保育社, 241-244.
- 1-65) 久保田善二郎 (1961) ドジョウの生態に関する研究-II 食性, *農水講研報*, **2**(1), 177-195.
- 1-66) 片山直樹, 村山恒也, 益子 美由希 (2015) 水田の有機農法がサギ類の採食効率および個体数に与える影響, *日本鳥学会誌*, **64**(2), 183-193.
- 1-67) 村田浩一 (1999) コウノトリ野生復帰のための諸課題:住民との協力関係ほか (<特集> 稀少鳥類の飼育・繁殖と野生復帰) . *Japanese journal of zoo and wildlife medicine*, **4**(1), 17-25.
- 1-68) 総務省 (2013) コウノトリと共に生きるまちづくり, 豊岡市環境 経済戦略.  
(参照 2016-12-14 : [http://www.soumu.go.jp/main\\_content/000063253.pdf](http://www.soumu.go.jp/main_content/000063253.pdf))
- 1-69) 環境省 (2015) トキ野生復帰の取組評価 (暫定案), 第9回トキ野生復帰検討会.  
(参照 2016-12-12 : [https://www.env.go.jp/nature/toki/sect\\_re/09mat04.pdf](https://www.env.go.jp/nature/toki/sect_re/09mat04.pdf))
- 1-70) 北陸農政局 (2012) 耕作放棄地を活かして地域を元気に! 耕作放棄地解決事例集.  
(参照 2017-02-21 : [http://www.maff.go.jp/hokuriku/nouson/kousaku\\_houki/pdf/h24\\_houkiti\\_all.pdf](http://www.maff.go.jp/hokuriku/nouson/kousaku_houki/pdf/h24_houkiti_all.pdf))
- 1-71) 清水孝昭 (2015) レッドデ-ブック 2014 汽水・淡水魚類-日本の絶滅のおそれのある野生生物-, 環境省編, ぎょうせい, 362p.
- 1-72) 久保田善二郎, 早山万彦, 栗山丞治 (1957) pH 及び農薬のドジョウに及ぼす影響に就いて, *農林省水産講習所研究報告*, **6**(3), 327-336.
- 1-73) 長沢純夫, 浅野昌司, 近藤和信 (1963) ドジョウに対する PCP の毒性 とくに Size factor の算定, *日本応用動物昆虫学会誌*, **7**(4), 300-306.
- 1-74) 長沢純夫, 柴三千代 (1969) ドジョウに対する PCP の毒性 とくに濃度と浸漬時間の関係, *日本応用動物昆虫学会誌*, **13**(2), 47-51.
- 1-75) 板沢靖男, 木村健一 (1963) 新しい除草剤の魚に対する毒性-II DBN, *水産増殖*, **11**(2), 97-100.
- 1-76) 浅野昌司, 長沢純夫, 近藤和信 (1964) ドジョウに対する PCP の毒性 とくに個体の大きさについて, *日本応用動物昆虫学会誌*, **8**(3), 185-190.
- 1-77) 西内康浩, 吉田孝二, 橋本 康 (1971a) 各種農薬のドジョウに及ぼす影響- I , *水産増殖*, **18**(5/6), 227-235.
- 1-78) 西内康浩, 岩村 肇, 浅野和也 (1980) 数種水産動物に対する農薬の影響, *農薬検査所報告*, (20),

70-72.

- 1-79) 西内康浩, 岩村 肇, 浅野和也 (1986) 数種水産動物に対する農薬の影響, *農薬検査所報告*, (16), 42-50.
- 1-80) 西内康浩 (1971a) 各種農薬のドジョウに及ぼす影響-II, *水産増殖*, **19**(3), 87-92.
- 1-81) 西内康浩 (1971b) 各種農薬のドジョウに及ぼす影響-III, *水産増殖*, **19**(3), 93-96.
- 1-82) 西内康浩 (1971c) 各種農薬のドジョウに及ぼす影響-IV, *水産増殖*, **19**(3), 97-101.
- 1-83) 西内康浩 (1971d) 農薬製剤の数種淡水産動物に対する毒性-VIII *水産増殖*, **19**(3), 103-108.

## 第2章

- 2-1) 斉藤憲二, 片野 修, 小泉顕雄 (1988) 淡水魚の水田周辺における一時的な水域への侵入, *日本生態学誌*, **38**, 35-47.
- 2-2) 皆川明子, 西田一也, 藤井千春, 千賀裕太郎 (2006) 用排兼用型水路と接続する未整備水田の構造と水管理が魚類の生息に与える影響について, *農業土木学会論文集*, **74**(4), 65-72.
- 2-3) Suzuki T., Kobayashi T. and Ueno K. (2008) Genetic identification of larvae and juveniles the difference in the spawning site among Cyprininae fish species/subspecies in Lake Biwa. *Environmental Biology of Fishes*, **82**, 353-364.
- 2-4) 末広恭雄 (1933) 泥鰌の腸呼吸を簡単に証明する実験, *動物学雑誌*, **45**(542), 1-2.
- 2-5) 平山和次, 広瀬一美, 平野 礼次郎 (1967) ドジョウの腸呼吸について, *水産増殖*, **15**(3), 1-11.
- 2-6) 田中道明 (2001) 水田とその周辺水域に生息するドジョウ個体群の季節消失, *環動昆*, **12**, 91-101.
- 2-7) 皆川明子, 千賀裕太郎 (2007) 水田を繁殖場とする魚類の水田からの脱出に関する研究, *農業土木学会論文集*, **247**, 83-91.
- 2-8) 上田 哲行, 神宮字 寛 (2013) アキアカネに何が起こったか: 育苗箱施用浸透性殺虫剤のインパクト, *TOMBO*. **55**, 1-12.
- 2-9) Hayasaka, D., Korenaga, T., Suzuki, K., Sánchez-Bayo, F., and Goka, K. (2012) Differences in susceptibility of five cladoceran species to two systemic insecticides, imidacloprid and fipronil. *Ecotoxicology*, **21**(2), 421-427.
- 2-10) 小山 淳, 城所 隆 (2003) : 水田内のクモ類, アカネ属トンボ幼虫およびユスリカ類成・幼虫に対する水稻初期害虫防除の影響, *北日本病害虫研究会報*, **54**, 123-125.
- 2-11) 竹村武士, 渡部恵司, 森 淳, 小出水 規行, 嶺田拓也, 西田一也 (2012) 越冬時の湛水深が魚類の生残率に及ぼす影響, *農業農村工学会論文集*, **80**(2), 153-154.
- 2-12) 田中道明 (1999) 水田周辺の水環境の違いがドジョウの分布と生息密度に及ぼす影響,

魚類学会誌, **46**, 75-82.

- 2-13) 鈴木正貴 (2003) 魚類の双方向移動を保証する小規模魚道の開発とその効果の検証, 東京農工大学大学院連合農学研究科博士学位論文.
- 2-14) 大友芳成 (2005) 農業水路を想定したドジョウ越冬時の環境条件と生残率の関係について, 埼玉県農林総合研究センター-研究報告, **5**, 44-46.
- 2-15) 久保田善二郎, 久我万千子, 岡政 徹, 前田達男 (1965) ドジョウの増殖に関する研究 -VII. 仔魚の放養時期, 配合飼料の種類および池の底質が種苗の生産に及ぼす影響, 水産大学校研報, **14**, 59-73.
- 2-16) 久保田善二郎 (1961) ドジョウの生態に関する研究-I 生態的分布, 農水講研報, 11(1), 141-176.
- 2-17) 斉藤憲二 (1997) 淡水魚の繁殖場所としての一時的水域, 日本の希少淡水魚の現状と系統保存 “長田芳和, 細谷和海編”, 緑書房, 192-204.
- 2-18) Fujimoto, Y., Ouchi, Y., Hakuba, T., Chiba, H., and Iwata, M.(2008) Influence of modern irrigation, drainage system and water management on spawning migration of mud loach, *Misgurnus anguillicaudatus* C. *Environmental Biology of Fishes*, **81**(2), 185-194.

### 第3章

- 3-1) Abbott, W. S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticides. *Journal of Economic Entomology*, **18**, 265-267.
- 3-2) Lin, G., Adams, J., Farnsworth, B., Wei, Y., Marino, B.D. and Berry, J.A. (1999) Ecosystem carbon exchange in two terrestrial ecosystem mesocosms under changing atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. *Oecologia*, **119**(1), 97-108.
- 3-3) Foekema, E.M., Kaag, N.H.B.M., van Hussen, D.M., Jak, R. G., Scholten, M.C.Th. and Guchte, C.v.d. (1998) Mesocosm observations on the ecological response of an aquatic community to sediment contamination. *Water Science & Technology*, **37**(6), 249-256.
- 3-4) Bergstrom, U. and Englund, G. (2002) Estimating predation rates in experimental systems: Scale-dependent effects of aggregative behavior. *Oikos*, **97**, 251-259.
- 3-5) 高橋正征 (1993) メソコスム研究の歴史, メソコスム 湖沼生態系の解析 “西條八束, 坂本 充編”, 名古屋大学出版会, 17-34.
- 3-6) Petersen, J.E., Kemp, W.M., Bartleson, R., Boynton, W.R., Chen, C.C., Cornwell, J.C., Gardner, R.H., Hinkle, D.C., Houde, E.D., Malone, T.C., Mowitt, W.P., Murray, L., Sanford, L.P., Stevenson, J.C., Sundberg, K.L. and Suttles, S.E. (2003) Multiscale experiments in coastal ecology: Improving realism and advancing theory, *Bioscience*, **53**(12), 1181-1197
- 3-7) 岩崎雄一 (2016) 生物群集の応答から金属の“安全”濃度を推定する: 野外調査でできること, *日本生態学誌*, **66**(1), 81-90.

- 3-8) Cairns, J. (1983) Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard?. *Hydrobiologia*, **100**, 47-57.
- 3-9) Levin, S. A., Kimball, K. D., McDowell, W. H. and Kimball, S.F. (1984) New perspectives in ecotoxicology. *Environmental Management*, **8**, 375-442.
- 3-10) 久保田善二郎, 早山万彦, 栗山丞治 (1957) pH 及び農薬のドジョウに及ぼす影響に就いて, *農林省水産講習所研究報告*, **6**(3), 327-336.
- 3-11) 長沢純夫, 浅野昌司, 近藤和信 (1963) ドジョウに対する PCP の毒性とくに Size factor の算定, *日本応用動物昆虫学会誌*, **7**(4), 300-306.
- 3-12) 西内康浩, 吉田孝二, 橋本 康 (1971a) 各種農薬のドジョウに及ぼす影響- I, *水産増殖*, **18**(5/6), 227-235.
- 3-13) 西内康浩 (1971b) 各種農薬のドジョウに及ぼす影響-II, *水産増殖*, **19**(3), 87-92.
- 3-14) 西内康浩 (1971c) 各種農薬のドジョウに及ぼす影響-III, *水産増殖*, **19**(3), 93-96.
- 3-15) 西内康浩 (1971d) 各種農薬のドジョウに及ぼす影響-IV, *水産増殖*, **19**(3), 97-101.
- 3-16) 中西康介, 田和康太, 蒲原 漠, 野間直彦, 沢田裕一 (2009) 栽培管理方法の異なる水田間における大型水生動物群集の比較, *環動昆*, **20**(3), 103-114.
- 3-17) Faust, M., Altenburger, R., Backhaus, T., Blanck, H., Boedeker, W., Gramatica, P., Hamer, V., Scholze, M., Vighi, M. and Grimme, L.H. (2001) Predicting the joint algal toxicity of multi-component s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants. *Aquatic Toxicology*, **56**(1), 13-32.
- 3-18) Faust, M., Altenburger, R., Backhaus, T., Blanck, H., Boedeker, W., Gramatica, P., Hamer, V., Scholze, M., Vighi, M. and Grimme, L.H. (2003) Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. *Aquatic Toxicology*, **63**(1), 43-63.
- 3-17) 神宮宇寛, 上田哲行, 五箇公一, 日鷹一雅, 松良俊明 (2009) フィプロニルとイミタダクロプリドを成分とする育苗箱施用殺虫剤がアキアカネの幼虫と羽化に及ぼす影響, *農業農村工学会論文集*, **259**, 35-41.
- 3-18) Hayasaka, D., Korenaga, T., Sánchez-Bayo, F. and Goka, K. (2012) Differences in ecological impacts of systemic insecticides with different physicochemical properties on biocenosis of experimental paddy fields, *Ecotoxicology*, **21**(1), 191-201.
- 3-19) Kasai, A., Hayashi, T. I., Ohnishi, H., Suzuki, K., Hayasaka, D., and Goka, K. (2016) Fipronil application on rice paddy fields reduces densities of common skimmer and scarlet skimmer. *Scientific reports*, **6**.
- 3-20) 皆川明子, 高木強治, 後藤眞宏, 樽屋啓之 (2009) 早場米生産水田における魚類の移入と移出について, *農業農村工学会論文集*. **261**, 83-91.
- 3-21) 久保田善二郎 (1961) ドジョウの生態に関する研究-II 生殖腺について, *農林省水産講習所研究報告*, **11**(1), 197-211.



- 3-22) 久保田善二郎, 久我万千子, 岡政 徹, 前田達男 (1965) ドジョウの増殖に関する研究 -VII 仔魚の放養時期, 配合飼料の種類および池の底質が種苗の生産に及ぼす影響について, 農林省水産講習所研究報告, **14**(1), 59-73.
- 3-20) 日本植物防疫協会 (2011) 農薬ハンドブック, 日本植物防疫協会, 東京.
- 3-21) United States Environmental Protection Agency (2008) Pesticide fact sheet. Name of chemical: Chlorantraniliprole. Washinton, D. C.
- 3-22) 鈴木 讓, 植松一眞, 渡部終五, 会田勝美 (2013) 総論, 増補改訂版 魚類生理学の基礎, “会田勝美・金子豊二編”, 恒星社厚生閣, 東京, 1-27.
- 3-23) 長野昌子, 片山知史 (2015) 日向灘におけるマダイ *Pagrus major* の生活史特性と肥満度の経年変化, 日本水産学会誌, **81**(2), 219-226.
- 3-24) 松田圭史, 橋本 博, 木村拓人, 伏島一平, 増田賢嗣, 神保忠雄, 今泉 均 (2014) 飼料の違いがカタクチイワシの親魚養成と産卵成績, 仔魚に及ぼす影響, 水産技術, **6**(2), 139-146.
- 3-25) Fujimoto, Y., Ouchi, Y., Hakuba, T., Chiba, H., and Iwata, M.(2008) Influence of modern irrigation, drainage system and water management on spawning migration of mud loach, *Misgurnus anguillicaudatus* C. *Environmental Biology of Fishes*, **81**(2), 185-194.

#### 第4章

- 4-1) 久保田善二郎, 早山万彦, 栗山丞治 (1957) pH 及び農薬のドジョウに及ぼす影響に就いて, 農林省水産講習所研究報告, **6**(3), 327-336.
- 4-2) 若林明子 (2003) 7 毒性発現と作用様式 (mode of action), 化学物質と生態毒性 改訂版, 丸善. 129-139.
- 4-3) 巖佐 庸, 倉谷 滋, 斎藤 成也, 塚谷 裕一編 (2013) 岩波 生物学辞典 第5版, 岩波書店.
- 4-4) 植松一眞, 山本直之 (2013) 第2章 神経系, 増補改訂版 魚類生理学の基礎 “会田勝美・金子豊二編”, 恒星社厚生閣, 東京, 28-42.
- 4-5) Drummond, R. A., & Russom, C. L. (1990). Behavioral toxicity syndromes: A promising tool for assessing toxicity mechanisms in juvenile fathead minnows. *Environmental toxicology and chemistry*, **9**(1), 37-46.
- 4-6) 中村俊六 (1995) 魚道のはなし -魚道設計のためのガイドライン-, 山海堂.
- 4-7) 鈴木正貴, 水谷正一, 後藤 章 (2000) 水田生態系保全のための小規模水田魚道の開発, 農業土木学会誌, **68**(12), 1263-1266.
- 4-8) 大友芳成 (2008) モツゴ, メダカ, ドジョウの遊泳能力, 埼玉県農林総合研究センター-研究報告, **7**, 129-131.
- 4-9) 加藤宗英, 水谷正一, 鈴木正貴, 後藤 章 (2005) 小規模魚道の設置諸元を検討するため

- の小型魚類の遊泳能力, 農業土木学会論文集, **235**, 59-65.
- 4-10) 矢田谷健一, 泉 完, 東 信行, 丸居 篤 (2015) ドジョウ稚魚の遊泳能力の測定, 農業農村工学会論文集, **83(6)**, II\_121-II\_126.
- 4-11) 日本植物防疫協会 (2011) 農薬ハンドブック, 日本植物防疫協会, 東京.
- 4-12) Little, E. E., & Finger, S. E. (1990). Swimming behavior as an indicator of sublethal toxicity in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **9(1)**, 13-19.
- 4-13) 高橋正征 (1993) メソコスム研究の歴史, メソコスム 湖沼生態系の解析 “西條八東, 坂本 充編”, 名古屋大学出版会, 17-34.
- 4-14) 早坂大亮, 永井孝志, 五箇公一 (2013) 農薬による生物多様性影響評価の重要性: 個体評価から群集評価へ: 生物多様性に配慮した農薬管理の在り方, *日本生態学会誌*, **63(2)**, 193-206.
- 4-15) 早坂大亮, 鈴木一隆, 是永知子, 諸岡歩希, 野村拓志, 深澤圭太, Sánchez-Bayo, F., 五箇公一 (2013) イミダクロプリドおよびフィプロニルを有効成分とする育苗箱施用殺虫剤の連続施用がトンボ類幼虫の群集に及ぼす生態影響, *日本農薬学会誌*, **38(2)**, 101-107.
- 4-16) Sharma, K. K., Sharma, V., Gupta, P., Jaya, M., Kumar, A., and Singh, B. (2008) Persistence and vertical distribution of termiticide fipronil in modified ground board test. *Environmental monitoring and assessment*, **137(1-3)**, 179-184.
- 4-17) Chatterjee, N. S. and Gupta, S. (2010) Fipronil mobility and transformation in undisturbed soil columns. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, **85(2)**, 152-156.
- 4-18) Thuyet, D. Q., Watanabe, H., and Motobayashi, T. (2011) Effect of formulations and treatment methods of nursery boxes applied with insecticide on the behavior of imidacloprid in rice paddy fields. *Journal of Pesticide Science*, **36(1)**, 9-15.
- 4-19) Nagai, T. (2016) Ecological effect assessment by species sensitivity distribution for 68 pesticides used in Japanese paddy fields, *Journal of Pesticide Science*, **41(1)**, 6-14.
- 4-20) Maltby, L., Blake, N., Brock, T., and Van den Brink, P. J. (2005) Insecticide species sensitivity distributions: importance of test species selection and relevance to aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24(2)**, 379-388.
- 4-21) Maltby, L., Brock, T. C., and van den Brink, P. J. (2009) Fungicide risk assessment for aquatic ecosystems: importance of interspecific variation, toxic mode of action, and exposure regime. *Environmental Science & Technology*, **43(19)**, 7556-7563.
- 4-22) 農業環境技術研究所 (2016) 技術マニュアル: 農薬の生態リスク評価のための種の感受性分布解析 ver.10, 農業環境技術研究所.  
(参照 2017-01-09 : <http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/ssd/ssd.pdf>)
- 4-23) Baskaran, S., Kookana, R.S. and Naidu, R. (1997) Determination of the insecticide imidacloprid in water and soil using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*,

787(1), 271-275.

- 4-24) Abbott, W. S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticides. *Journal of Economic Entomology*, **18**, 265-267.
- 4-25) 久保田善二郎 (1961) ドジョウの生態に関する研究-IV 成長度および肥満度について, *水産大学校研究報告*, **11**, 213-234.
- 4-26) 鈴木 亮, 山口元吉 (1977) ドジョウの成熟におよぼす水温の影響ならびに周年採卵, *日本水産学会誌*, **43**(4), 367-373
- 4-27) 鈴木 亮 (1974) ドジョウ親魚の飼育環境と採卵成績, *日本水産学会誌*, **22**(2), 72-77.
- 4-28) 久保田善二郎 (1961) ドジョウの生態に関する研究-II 食性, *農水講研報*, 2(1), 177-195.
- 4-29) 早坂大亮 (2014) 水田メソコスムによる生物群集に及ぼす殺虫剤の影響に関する研究, *日本農薬学会誌*, **39**(2), 108-114.
- 4-30) 小山 淳, 城所 隆 (2003) 水田内のクモ類,アカネ属トンボ幼虫およびユスリカ類成・幼虫に対する水稻初期害虫防除の影響, *北日本病害虫研究会報*, **54**, 123-125.
- 4-31) 嶋田知英, 小川和雄, 三輪 誠, 齋藤茂雄 (2004) 初期水稻農薬が水田に生息する非防除対象節足動物に与える影響, *関東東山病害虫研究会報*, **51**, 167-170.
- 4-32) 神宮字 寛, 上田哲行, 五箇公一, 日鷹一雅, 松良俊明 (2009) フィプロニルとイミダクロプリドを成分とする育苗箱施用殺虫剤がアカネの幼虫と羽化に及ぼす影響, *農業農村工学会論文集*, **259**, 35-41.
- 4-33) 神宮字 寛, 上田哲行, 角田真奈美, 相原祥子, 齋藤満保 (2010) 耕作水田におけるフィプロニルを成分とする育苗箱施用殺虫剤がアカネ属に及ぼす影響, *農業農村工学会論文集*, **267**, 79-86.
- 4-34) Jinguji, H., Thuyet, D.Q., Ueda, T. and Watanabe, H. (2013) Effect of imidacloprid and fipronil pesticide application on *Sympetrum infuscatum* (Libellulidae: Odonate) larvae and adult, *Paddy and Water Environment*, **11**, 277-284.
- 4-35) 早坂大亮, 鈴木一隆, 是永知子, 諸岡(齋藤)歩希, 野村拓志, 深澤圭太, 五箇公一 (2013) イミダクロプリドおよびフィプロニルを有効成分とする育苗箱施用殺虫剤の連続施用がトンボ類幼虫の群集に及ぼす生態影響, *日本農薬学会誌*, **38**(2), 101-107.
- 4-36) Kasai, A., Hayashi, T. I., Ohnishi, H., Suzuki, K., Hayasaka, D., and Goka, K. (2016) Fipronil application on rice paddy fields reduces densities of common skimmer and scarlet skimmer. *Scientific reports*, **6**. ([www.nature.com/articles/srep23055](http://www.nature.com/articles/srep23055))

## 第5章

- 5-1) 横山淳史 (2011) 河川水生昆虫に対する農薬の影響に関する研究, *Journal of pesticide science*, **36**(3), 434-439.
- 5-2) 早坂大亮 (2014) 水田メソコスムによる生物群集に及ぼす殺虫剤の影響に関する研究, *日本農薬*

学会誌, **39**(2), 108-114.

- 5-3) Wu, Y., Lin, C., & Yuan, L. (2007) Characteristics of six cladocerans in relation to ecotoxicity testing. *Ecological Indicators*, **7**(4), 768-775.
- 5-4) Hayasaka, D., Suzuki, K., Nomura, T., Nishiyama, M., Nagai, T., Sánchez-Bayo, F., and Goka, K. (2013) Comparison of acute toxicity of two neonicotinoid insecticides, imidacloprid and clothianidin, to five cladoceran species. *Journal of Pesticide Science*, **38**(1), 44-47.
- 5-5) 鷺谷いずみ (1998) 生態系管理における順応的管理, *保全生態学研究*, **3**, 145-166.
- 5-6) Costanza, R., Mageau, M., Norton, B., and Patten, B.C. (1998) Social decision making. Ecosystem health “D. Rapport, R. Costanza, P. Epstein, C. Gaudet, and R. Levins, editors.”. Blackwell, Malden, Massachusetts, USA. p251-260.
- 5-7) Walters. C. (1998) Challenges in adaptive management to riparian and coastal ecosystems. *Conservation Ecology*, **1**(2),1.
- 5-8) 上田哲行 (2008a) アキアカネの減少傾向と減少時期-会員へのアンケート結果から-, *SYMNET*, **10**, p.2.
- 5-9) 上田哲行 (2008b) 赤トンボネットワーク会員によるアカトンボセンサス 2007 (速報), *SYMNET*, **10**, 3-9.
- 5-10) 二橋 亮 (2012) 富山県におけるアカトンボ激減の実態, *昆虫と自然*, **47**(8), 10-15.
- 5-11) 福井順治 (2012) 静岡県におけるアカトンボの減少の記録, *昆虫と自然*, **47**(8), 5-9.
- 5-12) 小山 淳, 城所 隆 (2003) : 水田内のクモ類, アカネ属トンボ幼虫およびユスリカ類成・幼虫に対する水稻初期害虫防除の影響, *北日本病害虫研究会報*, **54**, 123-125.
- 5-13) 小山 淳, 城所 隆, 小野 享 (2005) : 水田の捕食性天敵類に与える農薬の影響, *宮城県古川農業試験場研究報告*, **5**, 31-42.
- 5-14) 嶋田知英, 小川和雄, 三輪 誠, 齋藤茂雄 (2004) 初期水稻農薬が水田に生息する非防除対象節足動物に与える影響, *関東東山病害虫研究会報*, **51**, 167-170.
- 5-15) 神宮字 寛, 上田哲行, 五箇公一, 日鷹一雅, 松良俊明 (2009) フィプロニルとイミダクロプリドを成分とする育苗箱施用殺虫剤がアカネの幼虫と羽化に及ぼす影響, *農業農村工学会論文集*, **259**, 35-41.
- 5-16) 神宮字 寛, 上田哲行, 角田真奈美, 相原祥子, 齋藤満保 (2010) 耕作水田におけるフィプロニルを成分とする育苗箱施用殺虫剤がアカネ属に及ぼす影響, *農業農村工学会論文集*, **267**, 79-86.
- 5-17) Jinguji, H., Thuyet, D.Q., Ueda, T. and Watanabe, H. (2013) Effect of imidacloprid and fipronil pesticide application on *Sympetrum infuscatum* (Libellulidae: Odonate) larvae and adult, *Paddy and Water Environment*, **11**, 277-284.
- 5-18) 粟生田忠雄, 片野 海, 遠山和成, 神宮字 寛 (2013) 赤トンボの羽化殻を指標とした市民参加型の水田環境評価, *新潟大学農学部研究報告*, **65**(2), 131-135.
- 5-19) 長坂卓紀, 本林 隆, 新井 裕 (2003) : 水田の排水システムの変化がアカネ個体群に与え

- る影響に関する予備的調査, *日本応用動物昆虫学会大会講演要旨*, **47**, p.102.
- 5-20) 城所 隆, 林 かずよ (2000) 粒剤施用苗の額縁移植によるコバネイナゴの防除, *北日本病害虫研究会報*, **51**, 144-145.
- 5-21) 渋谷俊一 (1991) イネミズゾウムシに対する額縁散布の防除効果第1報-水面施用剤による防除効果-, *北日本病害虫研究会報*, **42**, 83-84.
- 5-22) 渋谷俊一 (1993) イネミズゾウムシに対する額縁散布の効果 第2報-粒剤箱処理苗の額縁移植による防除効果-, *北日本病害虫研究会報*, **44**, 103-104.
- 5-23) 日本植物防疫協会 (2011) IVジアミド系殺虫剤, *農薬ハンドブック 2011年版 (改訂新版)*, p.76
- 5-24) Jinguji, H. and Ueda, T. (2015) Can the use of more selective insecticides promote the conservation of *Sympetrum frequens* in Japanese rice paddy fields (*Odonate: Libellulidae*)?, *Odonatologica*, **44**(1), 63-80.
- 5-25) 早坂大亮, 鈴木一隆, 是永知子, 諸岡(斎藤)歩希, 野村拓志, 深澤圭太, 五箇公一 (2013) イミダクロプリドおよびフィプロニルを有効成分とする育苗箱施用殺虫剤の連続施用がトンボ類幼虫の群集に及ぼす生態影響, *日本農薬学会誌*, **38**(2), 101-107.
- 5-26) 本林 隆, 源河正明, Phong, T.K., 渡邊裕純 (2012) イミダクロプリドの製剤および施用方法の違いが水田に生息する水生昆虫に及ぼす影響, *日本応用動物昆虫学会誌*, **56**(4), 169-172.
- 5-27) 城所 隆, 小野 亨 (2001) : コバネイナゴの額縁防除に必要な粒剤施用苗の移植条数と減農薬程度, *北日本病害虫研究会報*, **52**, 129-145.
- 5-28) 皆川明子, 西田一也, 藤井千晴, 千賀裕太郎 (2006) 用排兼用型水路と接続する未整備水田の構造と水管理が魚類の生息に与える影響について, *農業土木学会論文集*, **244**, 467-474.
- 5-29) 鈴木正貴, 水谷正一, 後藤 章 (2000) 水田生態系保全のための小規模水田魚道の開発, *農業土木学会誌*, **68**(12), 1263-1266.
- 5-30) 久保田善二郎 (1961) ドジョウの生態に関する研究-I 生態的分布, *農水講研報*, **11**(1), 141-176.
- 5-31) 佐藤武信 (2010) 波付き管水田魚道の可能性, *水土の知 農業農村工学会誌*, **78**(7), 3-6
- 5-32) 斎藤敬吾, 三沢眞一, 吉川夏樹, 佐藤武信, 権田 豊, 宮津進 (2012) 水田魚道を利用するドジョウを対象とした自動計数システムの開発, *農業農村工学会論文集*, **279**, 277-282.

## 付録

メソコスム試験 水生生物調査 同定記録一覧表

# プランクトン調査

date	day	調査No.	chemJ		種名	学名	個体数
2016/6/9	15	1	クロラントラニブロール低濃度	1	ケブカミジンコ科ケブカミジンコ	<i>Macrothrix_rosea</i>	1
2016/6/9	15	11	クロラントラニブロール高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	1
2016/6/9	15	11	クロラントラニブロール高濃度	1	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	2
2016/6/9	15	11	クロラントラニブロール高濃度	1	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	1
2016/6/9	15	21	クロラントラニブロール低濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	1
2016/6/9	15	31	クロラントラニブロール高濃度	2	ミジンコ科オカメミジンコsp.	<i>Simocephalus_sp</i>	1
2016/6/9	15	31	クロラントラニブロール高濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	1
2016/6/9	15	41	フィブロンル低濃度	1	----		
2016/6/9	15	51	フィブロンル高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	1
2016/6/9	15	61	フィブロンル低濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	6
2016/6/9	15	61	フィブロンル低濃度	2	ミジンコ科オカメミジンコsp.	<i>Simocephalus_sp</i>	2
2016/6/9	15	71	フィブロンル高濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	3
2016/6/9	15	81	コントロールドジョウ放流	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	2
2016/6/9	15	91	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/6/9	15	101	コントロール	1	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	4
2016/6/9	15	111	コントロール	2	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Heterocypris_sp</i>	6
2016/6/21	27	2	クロラントラニブロール低濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	12
2016/6/21	27	12	クロラントラニブロール高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	6
2016/6/21	27	22	クロラントラニブロール低濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	20
2016/6/21	27	32	クロラントラニブロール高濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	2
2016/6/21	27	42	フィブロンル低濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	4
2016/6/21	27	52	フィブロンル高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	6
2016/6/21	27	62	フィブロンル低濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	7
2016/6/21	27	72	フィブロンル高濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	47
2016/6/21	27	82	コントロールドジョウ放流	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	11
2016/6/21	27	92	コントロールドジョウ放流	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	1
2016/6/21	27	102	コントロール	1	ツボウムシ属		1
2016/6/21	27	112	コントロール	2	----		
2016/7/6	42	3	クロラントラニブロール低濃度	1	----		
2016/7/6	42	13	クロラントラニブロール高濃度	1	----		
2016/7/6	42	23	クロラントラニブロール低濃度	2	----		
2016/7/6	42	33	クロラントラニブロール高濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	1
2016/7/6	42	43	フィブロンル低濃度	1	----		
2016/7/6	42	53	フィブロンル高濃度	1	----		
2016/7/6	42	63	フィブロンル低濃度	2	----		
2016/7/6	42	73	フィブロンル高濃度	2	----		
2016/7/6	42	83	コントロールドジョウ放流	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	2
2016/7/6	42	93	コントロールドジョウ放流	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	2
2016/7/6	42	103	コントロール	1	ツボウムシ	<i>Brachionus</i>	1
2016/7/6	42	103	コントロール	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	1
2016/7/6	42	113	コントロール	2	ソコムジンコ科ソコムジンコsp.	<i>Harpacticoida_sp</i>	1
2016/7/6	42	113	コントロール	2	ミジンコ科オカメミジンコsp.	<i>Simocephalus_sp</i>	1
2016/7/20	56	4	クロラントラニブロール低濃度	1	----		
2016/7/20	56	14	クロラントラニブロール高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	2
2016/7/20	56	24	クロラントラニブロール低濃度	2	----		
2016/7/20	56	34	クロラントラニブロール高濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	2
2016/7/20	56	44	フィブロンル低濃度	1	----		
2016/7/20	56	54	フィブロンル高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	5
2016/7/20	56	64	フィブロンル低濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	91
2016/7/20	56	74	フィブロンル高濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	4
2016/7/20	56	84	コントロールドジョウ放流	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	3
2016/7/20	56	94	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/7/20	56	104	コントロール	1	ケブカミジンコ科ケブカミジンコ	<i>Macrothrix_rosea</i>	4
2016/7/20	56	104	コントロール	1	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Heterocypris_sp</i>	1
2016/7/20	56	114	コントロール	2	ケブカミジンコ科ケブカミジンコ	<i>Macrothrix_rosea</i>	22
2016/7/20	56	114	コントロール	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	1
2016/8/3	70	5	クロラントラニブロール低濃度	1	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	1
2016/8/3	70	5	クロラントラニブロール低濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	6
2016/8/3	70	15	クロラントラニブロール高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	4
2016/8/3	70	15	クロラントラニブロール高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	1
2016/8/3	70	45	フィブロンル低濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	6
2016/8/3	70	55	フィブロンル高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	2
2016/8/3	70	55	フィブロンル高濃度	1	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	15
2016/8/3	70	65	フィブロンル低濃度	2	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	4
2016/8/3	70	65	フィブロンル低濃度	2	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	1
2016/8/3	70	65	フィブロンル低濃度	2	ケブカミジンコ科ケブカミジンコ	<i>Macrothrix_rosea</i>	1
2016/8/3	70	65	フィブロンル低濃度	2	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	1
2016/8/3	70	75	フィブロンル高濃度	2	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	1
2016/8/3	70	75	フィブロンル高濃度	2	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	1
2016/8/3	70	85	コントロールドジョウ放流	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	8
2016/8/3	70	95	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/8/3	70	105	コントロール	1	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	8
2016/8/3	70	115	コントロール	2	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Heterocypris_sp</i>	1
2016/8/3	70	115	コントロール	2	ミジンコ科オカメミジンコsp.	<i>Simocephalus_sp</i>	1
2016/8/3	70	115	コントロール	2	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	1
2016/8/20	87	6	クロラントラニブロール低濃度	1	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Heterocypris_sp</i>	2
2016/8/20	87	6	クロラントラニブロール低濃度	1	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	3
2016/8/20	87	6	クロラントラニブロール低濃度	1	カイミジンコ科カイミジンコsp.	<i>Fabaeformiscandona_myllaina</i>	1
2016/8/20	87	6	クロラントラニブロール低濃度	1	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	29
2016/8/20	87	6	クロラントラニブロール低濃度	1	ソコムジンコ科ソコムジンコsp.	<i>Harpacticoida_sp</i>	12
2016/8/20	87	6	クロラントラニブロール低濃度	1	ミジンコ科オカメミジンコsp.	<i>Simocephalus_sp</i>	1
2016/8/20	87	16	クロラントラニブロール高濃度	1	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	2
2016/8/20	87	16	クロラントラニブロール高濃度	1	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	3
2016/8/20	87	26	クロラントラニブロール低濃度	2	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	10
2016/8/20	87	26	クロラントラニブロール低濃度	2	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	2
2016/8/20	87	36	クロラントラニブロール高濃度	2	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	10
2016/8/20	87	36	クロラントラニブロール高濃度	2	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Physocypria_nipponica</i>	4
2016/8/20	87	36	クロラントラニブロール高濃度	2	カイミジンコ科カイミジンコsp.	<i>Fabaeformiscandona_myllaina</i>	1
2016/8/20	87	46	フィブロンル低濃度	1	ケンミジンコ科ケンミジンコsp.	<i>Cyclopoida_sp</i>	17
2016/8/20	87	46	フィブロンル低濃度	1	カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコsp.	<i>Heterocypris_sp</i>	2
2016/8/20	87	56	フィブロンル高濃度	1	ミジンコ科タマミジンコsp.	<i>Moina_sp</i>	5







# 水生生物調査

date	day	調査No.	chemJ	種名	学名	個体数	
2016/6/9	15	1	クロラントラニプロール低濃度	1	----		
2016/6/9	15	11	クロラントラニプロール高濃度	1	----		
2016/6/9	15	21	クロラントラニプロール低濃度	2	イシビル科spp.	Erpobdellidae_spp	1
2016/6/9	15	31	クロラントラニプロール高濃度	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/6/9	15	41	フィプロニル低濃度	1	----		
2016/6/9	15	51	フィプロニル高濃度	1	----		
2016/6/9	15	61	フィプロニル低濃度	2	----		
2016/6/9	15	71	フィプロニル高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/6/9	15	81	コントロールドジョウ放流	1	----		
2016/6/9	15	91	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/6/9	15	101	コントロール	1	----		
2016/6/9	15	111	コントロール	2	----		
2016/6/21	27	2	クロラントラニプロール低濃度	1	----		
2016/6/21	27	12	クロラントラニプロール高濃度	1	----		
2016/6/21	27	22	クロラントラニプロール低濃度	2	----		
2016/6/21	27	32	クロラントラニプロール高濃度	2	----		
2016/6/21	27	42	フィプロニル低濃度	1	----		
2016/6/21	27	52	フィプロニル高濃度	1	----		
2016/6/21	27	62	フィプロニル低濃度	2	----		
2016/6/21	27	72	フィプロニル高濃度	2	----		
2016/6/21	27	82	コントロールドジョウ放流	1	----		
2016/6/21	27	92	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/6/21	27	102	コントロール	1	トンボ科spp.若虫	Libellidae_spp_Nymph	2
2016/6/21	27	112	コントロール	2	----		
2016/7/6	42	3	クロラントラニプロール低濃度	1	----		
2016/7/6	42	13	クロラントラニプロール高濃度	1	----		
2016/7/6	42	23	クロラントラニプロール低濃度	2	----		
2016/7/6	42	33	クロラントラニプロール高濃度	2	----		
2016/7/6	42	43	フィプロニル低濃度	1	----		
2016/7/6	42	53	フィプロニル高濃度	1	----		
2016/7/6	42	63	フィプロニル低濃度	2	----		
2016/7/6	42	73	フィプロニル高濃度	2	----		
2016/7/6	42	83	コントロールドジョウ放流	1	----		
2016/7/6	42	93	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/7/6	42	103	コントロール	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	4
2016/7/6	42	113	コントロール	2	トンボ科spp.若虫	Libellidae_spp_Nymph	1
2016/7/6	42	113	コントロール	2	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	4
2016/7/6	42	113	コントロール	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	113	コントロール	2	イトトンボ科spp.若虫	Coenagrionidae_spp_Nymph	1
2016/7/20	56	4	クロラントラニプロール低濃度	1	----		
2016/7/20	56	14	クロラントラニプロール高濃度	1	----		
2016/7/20	56	24	クロラントラニプロール低濃度	2	ミズムシ科ミズムシ若虫	S_substriata_Nymph	1
2016/7/20	56	34	クロラントラニプロール高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/7/20	56	44	フィプロニル低濃度	1	----		
2016/7/20	56	54	フィプロニル高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/7/20	56	64	フィプロニル低濃度	2	----		
2016/7/20	56	74	フィプロニル高濃度	2	----		
2016/7/20	56	84	コントロールドジョウ放流	1	----		
2016/7/20	56	94	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/7/20	56	104	コントロール	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	14
2016/7/20	56	104	コントロール	1	ゲンゴロウ科spp.幼虫	Dytiscidae_spp_Nymph	2
2016/7/20	56	114	コントロール	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	13
2016/7/20	56	114	コントロール	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	35
2016/8/3	70	5	クロラントラニプロール低濃度	1	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	90
2016/8/3	70	5	クロラントラニプロール低濃度	1	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	22
2016/8/3	70	5	クロラントラニプロール低濃度	1	ミズムシ科ミズムシ若虫	S_substriata_Nymph	19
2016/8/3	70	5	クロラントラニプロール低濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	56
2016/8/3	70	5	クロラントラニプロール低濃度	1	ミギワバエ科ミギワバエspp.蛹	Ephydriidae_spp_Pupae	2
2016/8/3	70	5	クロラントラニプロール低濃度	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	5
2016/8/3	70	15	クロラントラニプロール高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/8/3	70	15	クロラントラニプロール高濃度	1	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	29
2016/8/3	70	15	クロラントラニプロール高濃度	1	カ科spp.蛹	Culicidae_spp_Pupae	2
2016/8/3	70	15	クロラントラニプロール高濃度	1	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	18
2016/8/3	70	15	クロラントラニプロール高濃度	1	ミズムシ科ミズムシ若虫	S_substriata_Nymph	7
2016/8/3	70	15	クロラントラニプロール高濃度	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	15	クロラントラニプロール高濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	33
2016/8/3	70	25	クロラントラニプロール低濃度	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	9
2016/8/3	70	25	クロラントラニプロール低濃度	2	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	3
2016/8/3	70	25	クロラントラニプロール低濃度	2	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	13
2016/8/3	70	35	クロラントラニプロール高濃度	2	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	16
2016/8/3	70	35	クロラントラニプロール高濃度	2	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	7
2016/8/3	70	35	クロラントラニプロール高濃度	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	12
2016/8/3	70	35	クロラントラニプロール高濃度	2	ミズムシ科ミズムシ若虫	S_substriata_Nymph	2
2016/8/3	70	35	クロラントラニプロール高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/8/3	70	45	フィプロニル低濃度	1	カ科spp.蛹	Culicidae_spp_Pupae	2
2016/8/3	70	45	フィプロニル低濃度	1	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	1
2016/8/3	70	45	フィプロニル低濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	12
2016/8/3	70	45	フィプロニル低濃度	1	ミズムシ科ミズムシ若虫	S_substriata_Nymph	2
2016/8/3	70	45	フィプロニル低濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	11
2016/8/3	70	55	フィプロニル高濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	7
2016/8/3	70	55	フィプロニル高濃度	1	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	65	フィプロニル低濃度	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	8
2016/8/3	70	65	フィプロニル低濃度	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	65	フィプロニル低濃度	2	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	9
2016/8/3	70	65	フィプロニル低濃度	2	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	1
2016/8/3	70	75	フィプロニル高濃度	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	18
2016/8/3	70	75	フィプロニル高濃度	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	75	フィプロニル高濃度	2	カ科spp.蛹	Culicidae_spp_Pupae	2
2016/8/3	70	75	フィプロニル高濃度	2	カ科トラフカケイカ幼虫	Lutzia_vorax_Larvae	5
2016/8/3	70	75	フィプロニル高濃度	2	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	4
2016/8/3	70	85	コントロールドジョウ放流	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	85	コントロールドジョウ放流	1	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	2
2016/8/3	70	85	コントロールドジョウ放流	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	17
2016/8/3	70	95	コントロールドジョウ放流	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	34
2016/8/3	70	95	コントロールドジョウ放流	2	カ科spp.蛹	Culicidae_spp_Pupae	3
2016/8/3	70	95	コントロールドジョウ放流	2	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	10
2016/8/3	70	95	コントロールドジョウ放流	2	マツモムシ科マツモムシ	Notonecta_triguttata_Adults	1

2016/8/3	70	105	コントロール	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	5
2016/8/3	70	105	コントロール	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	2
2016/8/3	70	115	コントロール	2	エグリトビケラ科ホタルトビケラ	Nothopsyche_ruficollis_Larvae	1
2016/8/3	70	115	コントロール	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/8/3	70	115	コントロール	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	2
2016/8/20	87	6	クロラントラニリブロール低濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	35
2016/8/20	87	6	クロラントラニリブロール低濃度	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/20	87	6	クロラントラニリブロール低濃度	1	ミズムシ科ミズムシ若虫	S_substriata_Nymph	2
2016/8/20	87	16	クロラントラニリブロール高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	6
2016/8/20	87	16	クロラントラニリブロール高濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	2
2016/8/20	87	16	クロラントラニリブロール高濃度	1	ミズムシ科ミズムシ若虫	S_substriata_Nymph	1
2016/8/20	87	26	クロラントラニリブロール低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/8/20	87	36	クロラントラニリブロール高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	8
2016/8/20	87	46	フィブロンル低濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	3
2016/8/20	87	46	フィブロンル低濃度	1	イトトンボ科spp.若虫	Coenagrionidae_spp_Nymph	1
2016/8/20	87	46	フィブロンル低濃度	1	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	1
2016/8/20	87	46	フィブロンル低濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/8/20	87	56	フィブロンル高濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	3
2016/8/20	87	56	フィブロンル高濃度	1	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	1
2016/8/20	87	66	フィブロンル低濃度	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	3
2016/8/20	87	66	フィブロンル低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	3
2016/8/20	87	66	フィブロンル低濃度	2	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	4
2016/8/20	87	76	フィブロンル高濃度	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	1
2016/8/20	87	76	フィブロンル高濃度	2	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	1
2016/8/20	87	86	コントロールドジョウ放流	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	1
2016/8/20	87	86	コントロールドジョウ放流	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/8/20	87	96	コントロールドジョウ放流	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	2
2016/8/20	87	96	コントロールドジョウ放流	2	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	2
2016/8/20	87	106	コントロール	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	5
2016/8/20	87	116	コントロール	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	3
2016/8/20	87	116	コントロール	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/20	87	116	コントロール	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	1
2016/8/20	87	116	コントロール	2	トンボ科spp.若虫	Libellulidae_spp_Nymph	1
2016/9/4	102	7	クロラントラニリブロール低濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	21
2016/9/4	102	17	クロラントラニリブロール高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	10
2016/9/4	102	27	クロラントラニリブロール低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/9/4	102	27	クロラントラニリブロール低濃度	2	カ科シナハマダラカ群幼虫	Anopheles_sinensis_Wiedemann_Larvae	1
2016/9/4	102	37	クロラントラニリブロール高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	4
2016/9/4	102	47	フィブロンル低濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/4	102	57	フィブロンル高濃度	1	----	----	----
2016/9/4	102	67	フィブロンル低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/4	102	77	フィブロンル高濃度	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	3
2016/9/4	102	77	フィブロンル高濃度	2	カ科ハマダライエカ幼虫	Culex_orientalis_Larvae	1
2016/9/4	102	87	コントロールドジョウ放流	1	----	----	----
2016/9/4	102	97	コントロールドジョウ放流	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/4	102	107	コントロール	1	トンボ科spp.若虫	Libellulidae_spp_Nymph	2
2016/9/4	102	117	コントロール	2	トンボ科ショウジョウトンボ若虫	Crocothemis_servilia_mariannae_Nymph	1
2016/9/4	102	117	コントロール	2	トンボ科spp.若虫	Libellulidae_spp_Nymph	2
2016/9/14	112	8	クロラントラニリブロール低濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	8
2016/9/14	112	8	クロラントラニリブロール低濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2
2016/9/14	112	8	クロラントラニリブロール低濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	5
2016/9/14	112	18	クロラントラニリブロール高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	30
2016/9/14	112	28	クロラントラニリブロール低濃度	2	----	----	----
2016/9/14	112	38	クロラントラニリブロール高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	31
2016/9/14	112	38	クロラントラニリブロール高濃度	2	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	2
2016/9/14	112	38	クロラントラニリブロール高濃度	2	マツモムシ科マツモムシ	Notonecta_triguttata_Adults	1
2016/9/14	112	48	フィブロンル低濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/14	112	58	フィブロンル高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	13
2016/9/14	112	68	フィブロンル低濃度	2	キベリヒラタガムシ	Enochrus_japonicus_Adult	1
2016/9/14	112	68	フィブロンル低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/14	112	78	フィブロンル高濃度	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	6
2016/9/14	112	78	フィブロンル高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	3
2016/9/14	112	88	コントロールドジョウ放流	1	----	----	----
2016/9/14	112	98	コントロールドジョウ放流	2	----	----	----
2016/9/14	112	108	コントロール	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	6
2016/9/14	112	108	コントロール	1	ヤンマ科ギンヤンマspp.若虫	Anax_parthenope_spp_Nymph	9
2016/9/14	112	108	コントロール	1	トンボ科ショウジョウトンボ若虫	Crocothemis_servilia_mariannae_Nymph	2
2016/9/14	112	108	コントロール	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/14	112	118	コントロール	2	トンボ科spp.若虫	Libellulidae_spp_Nymph	1
2016/9/14	112	118	コントロール	2	トンボ科ショウジョウトンボ若虫	Crocothemis_servilia_mariannae_Nymph	4
2016/9/14	112	118	コントロール	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	4
2016/9/14	112	118	コントロール	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/9/14	112	118	コントロール	2	カ科spp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	2
2016/9/28	126	9	クロラントラニリブロール低濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/9/28	126	9	クロラントラニリブロール低濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	16
2016/9/28	126	9	クロラントラニリブロール低濃度	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	2
2016/9/28	126	19	クロラントラニリブロール高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	10
2016/9/28	126	19	クロラントラニリブロール高濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	1
2016/9/28	126	19	クロラントラニリブロール高濃度	1	コシボソガガガ科コシボソガガガ亜科	Bittacomorphella_esakii_Laevae	2
2016/9/28	126	19	クロラントラニリブロール高濃度	1	イシビル科spp.	Erbobdellidae_spp	3
2016/9/28	126	29	クロラントラニリブロール低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/28	126	39	クロラントラニリブロール高濃度	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	15
2016/9/28	126	39	クロラントラニリブロール高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	7
2016/9/28	126	49	フィブロンル低濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/28	126	59	フィブロンル高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	4
2016/9/28	126	59	フィブロンル高濃度	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/9/28	126	69	フィブロンル低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/28	126	79	フィブロンル高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/9/28	126	89	コントロールドジョウ放流	1	----	----	----
2016/9/28	126	99	コントロールドジョウ放流	2	----	----	----
2016/9/28	126	109	コントロール	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	5
2016/9/28	126	109	コントロール	1	トンボ科ショウジョウトンボ若虫	Crocothemis_servilia_mariannae_Nymph	1
2016/9/28	126	109	コントロール	1	ギンヤンマ若虫	Anax_parthenope_Nymph	1
2016/9/28	126	109	コントロール	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	1
2016/9/28	126	111	コントロール	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	4
2016/9/28	126	111	コントロール	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	3
2016/9/28	126	111	コントロール	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/10/11	139	10	クロラントラニリブロール低濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	11
2016/10/11	139	10	クロラントラニリブロール低濃度	1	イトトンボ科spp.若虫	Coenagrionidae_spp_Nymph	12
2016/10/11	139	10	クロラントラニリブロール低濃度	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	71
2016/10/11	139	20	クロラントラニリブロール高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	36

2016/10/11	139	30	クロラントラニプロール低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/10/11	139	40	クロラントラニプロール高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	19
2016/10/11	139	40	クロラントラニプロール高濃度	2	イトトンボ科spp.若虫	Coenagrionidae_spp_Nymph	1
2016/10/11	139	50	フィプロニル低濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	3
2016/10/11	139	60	フィプロニル高濃度	1	マツモムシ科マツモムシ	Notonecta_triguttata_Adults	1
2016/10/11	139	60	フィプロニル高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/10/11	139	70	フィプロニル低濃度	2	----	----	----
2016/10/11	139	80	フィプロニル高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/10/11	139	90	コントロールドジョウ放流	1	----	----	----
2016/10/11	139	100	コントロールドジョウ放流	2	----	----	----
2016/10/11	139	110	コントロール	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/10/11	139	110	コントロール	1	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	2
2016/10/11	139	110	コントロール	1	コシボソガガンボ科コシボソガガンボ亜科	Bittacomorphella_esakii_Laevae	4
2016/10/11	139	110	コントロール	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/10/11	139	110	コントロール	1	コガムシ成虫	Hydrochara_affinis_Adult	1
2016/10/11	139	120	コントロール	2	コカゲロウ科spp.若虫	Baetis_spp_Nymph	3
2016/10/11	139	120	コントロール	2	トンボ科ショウジョウトンボ若虫	Crocothemis_servilia_mariannae_Nymph	1

附着生物調査

date	day	調査No.	chemJ		種名	学名	個体数
2016/6/9	15	1	1	1	ヨロイミズダニ科sp.	Arrenurus_spp	1
2016/6/9	15	11	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	4
2016/6/9	15	21	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	5
2016/6/9	15	31	1	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	6
2016/6/9	15	41	1	1	ヨロイミズダニ科sp.	Arrenurus_spp	1
2016/6/9	15	51	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/6/9	15	61	2	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	4
2016/6/9	15	71	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/6/9	15	81	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	3
2016/6/9	15	91	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	3
2016/6/9	15	101	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	3
2016/6/9	15	101	1	1	イシビル科sp.	Erpobdellidae_spp	2
2016/6/9	15	101	1	1	カイミジン科イボオヨギカイミジンコsp.	P_nipponica	15
2016/6/9	15	111	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	4
2016/6/9	15	111	2	2	カイミジン科イボオヨギカイミジンコsp.	P_nipponica	40
2016/6/21	27	2	1	1	カイミジン科イボオヨギカイミジンコsp.	P_nipponica	7
2016/6/21	27	12	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/6/21	27	22	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	2
2016/6/21	27	32	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/6/21	27	42	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/6/21	27	52	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	2
2016/6/21	27	62	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	3
2016/6/21	27	72	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	3
2016/6/21	27	82	1	1	ヨロイミズダニ科sp.	Arrenurus_spp	1
2016/6/21	27	82	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/6/21	27	92	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/6/21	27	92	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	2
2016/6/21	27	102	1	1	イシビル科sp.	Erpobdellidae_spp	1
2016/6/21	27	102	1	1	カイミジン科イボオヨギカイミジンコsp.	P_nipponica	1
2016/6/21	27	112	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	9
2016/6/21	27	112	2	2	カイミジン科イボオヨギカイミジンコsp.	P_nipponica	21
2016/6/21	27	112	2	2	カイミジン科イボオヨギカイミジンコsp.	Heterocypris_sp	8
2016/7/6	42	3	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	3	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	3	1	1	コカゲロウ科sp.若虫	Baetis_spp_nymph	1
2016/7/6	42	3	1	1	カイミジン科イボオヨギカイミジンコsp.	P_nipponica	1
2016/7/6	42	13	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/7/6	42	23	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	5
2016/7/6	42	33	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	43	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	53	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	2
2016/7/6	42	63	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	63	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	73	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/7/6	42	83	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	4
2016/7/6	42	93	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	103	1	1	カイミジン科イボオヨギカイミジンコsp.	P_nipponica	29
2016/7/6	42	103	1	1	カイミジン科イボオヨギカイミジンコsp.	Heterocypris_sp	1
2016/7/6	42	113	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	113	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	3
2016/7/20	56	4	1	1	コカゲロウ科sp.若虫	Baetis_spp_nymph	7
2016/7/20	56	4	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	4
2016/7/20	56	14	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/7/20	56	14	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/20	56	24	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	29
2016/7/20	56	24	2	2	ヨロイミズダニ科sp.	Arrenurus_spp	1
2016/7/20	56	34	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	11
2016/7/20	56	44	1	1	ヨロイミズダニ科sp.	Arrenurus_spp	1
2016/7/20	56	54	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	7
2016/7/20	56	54	1	1	ヌカカ科ヌカカspp.幼虫	Ceratopogonidae_spp_Larvae	2
2016/7/20	56	64	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	4
2016/7/20	56	74	2	2	コカゲロウ科sp.若虫	Baetis_spp_nymph	5
2016/7/20	56	84	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	3
2016/7/20	56	94	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/7/20	56	94	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	2
2016/7/20	56	94	2	2	コカゲロウ科sp.若虫	Baetis_spp_nymph	2
2016/7/20	56	94	2	2	ミズムシ科ミズムシ成虫	S_substriata_Adults	1
2016/7/20	56	104	1	1	カ科sp.幼虫	Culicidae_spp_Larvae	1
2016/7/20	56	104	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/20	56	104	1	1	コカゲロウ科sp.若虫	Baetis_spp_nymph	2
2016/7/20	56	114	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	9
2016/7/20	56	114	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	5	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	14
2016/8/3	70	5	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	6
2016/8/3	70	5	1	1	カ科sp.幼虫	Culicidae_spp. larva	1
2016/8/3	70	15	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	15	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	4
2016/8/3	70	25	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	25	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	4
2016/8/3	70	35	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae	1
2016/8/3	70	45	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/8/3	70	55	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	55	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	4
2016/8/3	70	55	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/8/3	70	65	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/8/3	70	75	2	2	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	85	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	3
2016/8/3	70	95	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/8/3	70	105	1	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/3	70	115	2	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/8/20	87	6	1	1	イシビル科sp.	Erpobdellidae_spp	1
2016/8/20	87	6	1	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/8/20	87	16	1	1	イシビル科sp.	Erpobdellidae_spp	1



# 底生生物調査

date	day	調査No.	chemJ	種名	学名	個体数	
2016/6/9	15	1	クロラントラニプロール低濃度	1	----		
2016/6/9	15	11	クロラントラニプロール高濃度	1	----		
2016/6/9	15	21	クロラントラニプロール低濃度	2	----		
2016/6/9	15	31	クロラントラニプロール高濃度	2	----		
2016/6/9	15	41	フィプロニル低濃度	1	----		
2016/6/9	15	51	フィプロニル高濃度	1	----		
2016/6/9	15	61	フィプロニル低濃度	2	----		
2016/6/9	15	71	フィプロニル高濃度	2	----		
2016/6/9	15	81	コントロールドジョウ放流	1	----		
2016/6/9	15	91	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/6/9	15	101	コントロール	1	----		
2016/6/9	15	111	コントロール	2	----		
2016/6/21	27	2	クロラントラニプロール低濃度	1	----		
2016/6/21	27	12	クロラントラニプロール高濃度	1	----		
2016/6/21	27	22	クロラントラニプロール低濃度	2	----		
2016/6/21	27	32	クロラントラニプロール高濃度	2	----		
2016/6/21	27	42	フィプロニル低濃度	1	----		
2016/6/21	27	52	フィプロニル高濃度	1	----		
2016/6/21	27	62	フィプロニル低濃度	2	----		
2016/6/21	27	72	フィプロニル高濃度	2	----		
2016/6/21	27	82	コントロールドジョウ放流	1	----		
2016/6/21	27	92	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/6/21	27	102	コントロール	1	----		
2016/6/21	27	112	コントロール	2	----		
2016/7/6	42	3	クロラントラニプロール低濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	3
2016/7/6	42	13	クロラントラニプロール高濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2
2016/7/6	42	23	クロラントラニプロール低濃度	2	----		
2016/7/6	42	33	クロラントラニプロール高濃度	2	----		
2016/7/6	42	43	フィプロニル低濃度	1	----		
2016/7/6	42	53	フィプロニル高濃度	1	----		
2016/7/6	42	63	フィプロニル低濃度	2	----		
2016/7/6	42	73	フィプロニル高濃度	2	----		
2016/7/6	42	83	コントロールドジョウ放流	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	1
2016/7/6	42	93	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/7/6	42	103	コントロール	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/7/6	42	103	コントロール	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2
2016/7/6	42	113	コントロール	2	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	4
2016/7/20	56	4	クロラントラニプロール低濃度	1	----		
2016/7/20	56	14	クロラントラニプロール高濃度	1	----		
2016/7/20	56	24	クロラントラニプロール低濃度	2	----		
2016/7/20	56	34	クロラントラニプロール高濃度	2	----		
2016/7/20	56	44	フィプロニル低濃度	1	----		
2016/7/20	56	54	フィプロニル高濃度	1	----		
2016/7/20	56	64	フィプロニル低濃度	2	----		
2016/7/20	56	74	フィプロニル高濃度	2	----		
2016/7/20	56	84	コントロールドジョウ放流	1	----		
2016/7/20	56	94	コントロールドジョウ放流	2	----		
2016/7/20	56	104	コントロール	1	----		
2016/7/20	56	114	コントロール	2	----		
2016/8/3	70	5	クロラントラニプロール低濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	1
2016/8/3	70	15	クロラントラニプロール高濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	1
2016/8/3	70	25	クロラントラニプロール低濃度	2	----		
2016/8/3	70	35	クロラントラニプロール高濃度	2	----		
2016/8/3	70	45	フィプロニル低濃度	1	----		
2016/8/3	70	55	フィプロニル高濃度	1	----		
2016/8/3	70	65	フィプロニル低濃度	2	----		
2016/8/3	70	75	フィプロニル高濃度	2	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	1
2016/8/3	70	85	コントロールドジョウ放流	1	----		
2016/8/3	70	95	コントロールドジョウ放流	2	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	4
2016/8/3	70	105	コントロール	1	----		
2016/8/3	70	115	コントロール	2	エグリトビケラ科ホタルトビケラ	Nothopsyche_ruficollis_Larvae	1
2016/8/20	87	6	クロラントラニプロール低濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2
2016/8/20	87	6	クロラントラニプロール低濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Limnodrilus_socialis	1
2016/8/20	87	6	クロラントラニプロール低濃度	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	2
2016/8/20	87	16	クロラントラニプロール高濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	1
2016/8/20	87	16	クロラントラニプロール高濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Limnodrilus_socialis	1
2016/8/20	87	16	クロラントラニプロール高濃度	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/20	87	26	クロラントラニプロール低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/8/20	87	36	クロラントラニプロール高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/8/20	87	46	フィプロニル低濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2
2016/8/20	87	56	フィプロニル高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/8/20	87	56	フィプロニル高濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2
2016/8/20	87	56	フィプロニル高濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Branchiura_sowelbyi	1
2016/8/20	87	66	フィプロニル低濃度	2	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	3
2016/8/20	87	66	フィプロニル低濃度	2	イトミミズ科イトミミズ	Branchiura_sowelbyi	2
2016/8/20	87	66	フィプロニル低濃度	2	イトミミズ科イトミミズ	Limnodrilus_socialis	1
2016/8/20	87	76	フィプロニル高濃度	2	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2
2016/8/20	87	86	コントロールドジョウ放流	1	----		
2016/8/20	87	96	コントロールドジョウ放流	2	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	1
2016/8/20	87	96	コントロールドジョウ放流	2	イトミミズ科イトミミズ	Limnodrilus_socialis	1
2016/8/20	87	106	コントロール	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	9
2016/8/20	87	106	コントロール	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/8/20	87	116	コントロール	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/4	102	7	クロラントラニプロール低濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2
2016/9/4	102	7	クロラントラニプロール低濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Limnodrilus_socialis	1
2016/9/4	102	7	クロラントラニプロール低濃度	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	2
2016/9/4	102	17	クロラントラニプロール高濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	1
2016/9/4	102	17	クロラントラニプロール高濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Limnodrilus_socialis	1
2016/9/4	102	17	クロラントラニプロール高濃度	1	ユスリカ科ユスリカspp.幼虫	Chironomidae_spp_Larvae	1
2016/9/4	102	27	クロラントラニプロール低濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/9/4	102	37	クロラントラニプロール高濃度	2	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	1
2016/9/4	102	47	フィプロニル低濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2
2016/9/4	102	57	フィプロニル高濃度	1	ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ	Polypylis_hemisphaerula	2
2016/9/4	102	57	フィプロニル高濃度	1	イトミミズ科イトミミズ	Tubifex_tubifex	2










# メソコスム試験

## 水生生物調査 確認生物一覧








制作 宮城大学農村生態工学研究室

	<p>ミジンコ科タマミジンコ sp. <i>Moina sp</i></p>
	<p>ミジンコ科オカメミジンコ sp <i>Simocephalus sp</i></p>
	<p>ケンミジンコ科ケンミジンコ sp. <i>Cyclopoida sp</i></p>
	<p>ソコミジンコ科ソコミジンコ sp. <i>Harpacticoida sp</i></p>
	<p>ヒラタミジンコ科ヒラタミジンコ <i>Camptocercus rectirostris</i></p>

	<p>ケブカミジンコ科ケブカミジンコ <i>Macrothrix rosea</i></p>
	<p>カイミジンコ科イボカイミジンコ sp. <i>Heterocypris sp</i></p>
	<p>カイミジンコ科イボオヨギカイミジンコ sp. <i>Physocypris nipponica</i></p>
	<p>カイミジンコ科ホソナガカイミジンコ sp. <i>Stenocypris sp</i></p>
	<p>トンボ科 spp.若虫 <i>Libellulidae spp Nymph</i></p>

	<p>トンボ科ショウジョウトンボ若虫 <i>Crocothemis servilia mariannae</i> Nymph</p>
	<p>ギンヤンマ若虫 <i>Anax parthenope</i> Nymph</p>
	<p>イトトンボ科 spp.若虫 <i>Coenagrionidae spp</i> Nymph</p>
	<p>コカゲロウ科 spp.若虫 <i>Baetis spp</i> Nymph</p>
	<p>ゲンゴロウ科 spp.幼虫 <i>Dytiscidae spp</i> Nymph</p>

	<p>ガムシ科キベリヒラタガムシ成虫 <i>Enochrus japonicus</i> Adult</p>
 <p>画像引用 <a href="https://sites.google.com/site/beihaidaonokunchongshengtai/home/jia-chong/kogamushi">https://sites.google.com/site/beihaidaonokunchongshengtai/home/jia-chong/kogamushi</a></p>	<p>コガムシ <i>Hydrochara affinis</i> Adult</p>
	<p>エグリトビケラ科ホタルトビケラ <i>Nothopsyche ruficollis</i> Larvae</p>
	<p>ミズムシ科コミズムシ若虫 <i>S. substriata</i> Nymph</p>
	<p>マツモムシ科マツモムシ <i>Notonecta triguttata</i> Adult</p>

	<p>ユスリカ科ユスリカ spp.幼虫 <i>Chironomidae spp Larvae</i></p>
	<p>ユスリカ科ユスリカ spp.蛹 <i>Chironomidae spp pupae</i></p>
	<p>ミギワバエ科ミギワバエ spp.蛹 <i>Ephydriidae spp Pupae</i></p>
	<p>カ科 spp.幼虫 <i>Culicidae spp Larvae</i></p>
	<p>カ科 spp.蛹 <i>Culicidae spp Pupae</i></p>

	<p>カ科ハマダライエカ幼虫 <i>Culex orientalis</i> Larvae</p>
	<p>カ科シナハマダラカ群幼虫 <i>Anopheles sinensis Wiedemann</i> Larvae</p>
	<p>カ科トラフカクイカ幼虫 <i>Lutzia vorax</i> Larvae</p>
	<p>ヌカカ科ヌカカ spp.幼虫 <i>Ceratopogonidae spp</i> Larvae</p>
	<p>コシボソガガンボ科コシボソガガンボ亜科 <i>Bittacomorphella esakii</i> Laevae</p>

	<p>ヒラマキガイ科ヒラマキガイモドキ <i>Polypylis hemisphaerula</i></p>
	<p>イトミミズ科ユリミミズ <i>Limnodrilus socialis</i></p>
	<p>イトミミズ科イトミミズ <i>Tubifex tubifex</i></p>
	<p>イトミミズ科エラミミズ <i>Branchiura sowelbyi</i></p>
	<p>ヨロイミズダニ科 spp. <i>Arrenurus spp</i></p>



	<p>イシビル科 spp. <i>Erpobdellidae_spp</i></p>
	<p>マシジミ <i>Corbicula leana</i></p>