

ウキクサ生長阻害試験の我が国への導入の可否の検討

佃 美和^{*2}、伊藤和男^{*1}、村岡美和^{*1}、清水謙一^{*2}、清野義人^{*2}、永吉秀光^{*2}

Miwa TSUKUDA, Kazuo ITOU, Miwa MURAOKA, Kenichi SHIMIZU, Yoshito SEINO,
Hidemitsu NAGAYOSHI
(平成 20 年度実績)

要 約

農薬の水産植物への影響を評価するための試験法として OECD が採択した「ウキクサ生長阻害試験 (TG221)」について、我が国への導入の可否を検証するための試験を実施した。本年度は予備的な検討として、アオウキクサ (*Lemna paucicostata*) を用いた生長程度の調査、微細な藻類等を除去したアオウキクサの培養株の作成 (無藻類化) 及び継代培養の検討を行った。その結果、SIS 培地による生長程度については十分な生長が得られなかった。その要因としては前培養期間の不足及び藻類の混入が考えられた。ウキクサの無藻類化については、次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いた方法で藻類の除去を試み、汚染のない個体を得ることができた。また、無藻類化したアオウキクサの継代培養について温度条件を検討した結果、6℃以上の温度がアオウキクサ維持に必要であることが明らかになった。

はじめに

農薬の水産植物への影響については、緑藻類を用いた藻類生長阻害試験により評価されているところであるが、生物種が単細胞の緑藻類だけでは水産植物への影響評価としては不十分との意見もあり中央環境審議会農薬小委員会等で議論がなされている。一方、OECD においては、ウキクサ生長阻害試験 (TG221) が 2006 年 3 月に採択されたところである。このようなことから、採択された試験法の問題点や試験生物の感受性等を検討し、農薬の水産植物への影響試験法として我が国への導入の可否について検証することとした。

*1 (独) 農林水産消費安全技術センター農薬検査部検査技術研究課

*2 (独) 農林水産消費安全技術センター農薬検査部有用生物安全検査課

調査研究方法

1. アオウキクサにおける7日間の生長調査

下記の試験条件で、日本に最も広く分布しているアオウキクサを用いて生長調査をおこなった。なお、アオウキクサは微細な藻類を除去していないものを用いた。

- ・ 供試生物：アオウキクサ
- ・ 環境条件：止水式、24℃、約10000lux
- ・ 期間：7日間
- ・ 培地：SIS培地*
- ・ 試験容器：100ml ガラスビーカー
- ・ 培養装置：SANYO GROWTH CHAMBER MLR350

(*SIS培地：OECDのTGでコウキクサを試験生物とした時に使用が推奨されている培地)

2. 微細な藻類等を除去した（無藻類化）ウキクサ作成の検討

アオウキクサ葉状体を次亜塩素酸ナトリウム溶液（0.5%）に5分間浸漬した後、滅菌水で洗い、新たな培地に移して培養をおこなった。

3. 継代培養の検討

無藻類化したアオウキクサ株の継代培養は、維持に要する労力低減のため、できる限りゆっくり生長（低温、低照度で培養）させ維持できることが望ましい。そこで、2. で作成した無藻類化アオウキクサを用いて、下記条件下で培養をおこない、継代培養の最適条件を検討した。

- ・ 供試生物：アオウキクサ
- ・ 環境条件：止水式、4～10℃、360～1200lux
- ・ 培地：SIS培地
- ・ 試験容器：100ml ガラスビーカー

結果及び考察

1. アオウキクサにおける7日間の生長調査

7日間の試験期間における葉状体数としての生長は3～6倍であった。OECD TG221では対照区で7日間に7倍の生長が試験の有効性の判断基準とされており、本調査では十分な生長が得られなかった。前培養したアオウキクサを用いると生長倍数が大きくなったことから、本試験でアオウキクサの生長が基準を満たさなかった原因は前培養期間が不十分であったためと考えられた。また、藻類の混入もアオウキクサの生長を抑える要因の一つであったと考えられたため、無藻類化アオウキクサでの生長を確認する必要があると考えられた。（表1）

試験容器は試験液の蒸散と偶発的な汚染を抑えるため、ふたをすることが望ましいことから、ふたの材質がアオウキクサの生長に及ぼす影響について検討した。材質の異なる3種類のふたを用いて生長具合を調査したところ、ふたの違いによるアオウキクサの生長に大きな差は見られなかった。試験液の蒸散については、7日間の間にパラフィルム、サランラップ及びガラス板のふたで差がなかった。しかし、パラフィルム

ム及びラップには内側に水滴がつきやすいことから露光のスペクトルが変わることが懸念された。よって、空気の循環や露光の遮蔽の点からガラス板状のものの使用が適していると考えられた。

2. 微細な藻類等を除去した(無藻類化)ウキクサ作成の検討

次亜塩素酸ナトリウム溶液に5分間浸漬する方法により無藻類化を行ったところ、大多数は白化・枯死した。枯死に至っていないと思われる個体については、新たな培地に移して培養を継続した。2～3週間後にごく少数の個体から新たな葉状体の生長が観察され、藻類等の混入のない培養体を得ることができた。しかし、この方法によるアオウキクサからの藻類の除去は、歩留まりが悪く、また、作成に長期間を要したことから、確実かつ短期間に無藻類化ができるよう浸漬する薬剤の種類や浸漬時間など改善する余地があると考えられた。

3. 継代培養の検討

温度条件を検討したところ、4～5℃ではほとんどの葉状体が枯死することが明らかになった。ウキクサの維持には6℃以上の温度が必要と考えられた。今後、簡易にアオウキクサを継代培養できる最適な温度と光条件をさらに検討する必要があると考えられた。

表1：葉状体数の測定結果

ふた	容器数	0日目の 葉状体数	7日目の 葉状体数	生長倍数
パラフィルム	7	9～10	21～57	2.3～5.7
サランラップ	11	9	26～46	2.9～5.1
ガラス板	15	9	24～67	2.6～7.4