

〈論 文〉

マイクロコズムを用いた除草剤の水圈生態系に及ぼす影響と評価

高木 博夫* 橋本 真理子**
 高松 良江*** 稲森 悠平*

Assessment of Effect of Herbicides on Aquatic Ecosystem Using Small-scale Microcosm Systems

Hiroo TAKAGI*, Mariko HASHIMOTO**,
 Yoshiie TAKAMATSU*** and Yuhei INAMORI*

* Water Quality Renovation Technology Research Team, Regional Environment Division, National Institute for Environmental Studies, P.O. Tsukuba-gakuen, Tsukuba, Ibaragi 305 Japan

** Faculty of Science, Toho University, 2-2-1, miyama, Funabashi-shi, Chiba 274 Japan

*** Master Program of Environmental Science, Tsukuba University, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba-shi, Ibaragi 305 Japan

Abstract

The effect of two kinds of herbicide (Simazine, Thiobencarb) on the stability of small-scale microcosm system was investigated. The microcosm system was composed of microanimals as predator (*Cyclidium glaucoma*, *Lepadella* sp., *Philodina* sp., *Aeolosoma hemprichi*), algae as producer (*Chlorella* sp., *Tolyphothrix* sp.) and bacteria as decomposer (*Pseudomonas putida*, *bacillus cereus*, *Acinetobacter* sp., Coryneform bacteria). Simazine affected only the growth of *Tolyphothrix* sp. The number of which was measured for 15days after the addition of the herbicide, decreased to a fortieth with the addition of $0.08\text{mg}\cdot l^{-1}$ or more, while Thiobencarb affected the growth of *Cyclidium glaucoma* from $1.0\text{mg}\cdot l^{-1}$ in two species cultivation system and from $2.0\text{mg}\cdot l^{-1}$ in the microcosm system. The influence was mitigated by the diversity of constituents in the microcosm. *A. hemprich* was eliminated and the number of *Chlorella* sp. decreased to a third at above $0.5\text{mg}\cdot l^{-1}$ concentration of Thiobencarb. In the microcosm, Simazine was very stable, however the concentration of Thiobencarb decreased to 30% for 15days after the addition of $1.0\text{mg}\cdot l^{-1}$. It was found that the toxicity, the influence and the stability of pesticides in aquatic ecosystem were evaluated by the behavior of the constituent microorganisms and pesticides.

Key words: microcosm system, herbicide, simazine, thiobencarb, pesticides

1. はじめに

水環境の改善と修復を図る上において、水圈生態系に影響を及ぼす可能性があると考えられる農薬等の微

量化物質の動態と、それらの物質がどの程度の濃度で影響を発現させるかを明らかにする事はきわめて重要である。

農薬は、化学物質の中で人間が意図的、直接的に環

* 国立環境研究所地域環境研究グループ水改善手法研究チーム 〒305 つくば市小野川16-2

** 東邦大学理学部 〒274 船橋市三山2-2-1 (現)日本環境測定 〒108 東京都港区芝浦3-6-18

*** 筑波大学環境科学研究所 〒305 つくば市天王台1-1-1

境に投している生理化学物質である。人間への影響評価は、各種生物を用いた毒性試験の結果を用いて行われているが、生態系に着目した影響評価試験の重要性は指摘されているものの、試験方法の確立の困難性等からほとんど行われておらず、評価の考え方や手法はいまだ確立されているとはいがたい^{1)~2)}。農薬等の影響がもっとも懸念される水圈生態系において、これらの物質の影響評価を行うために新たな手法を開発する必要がある。ここでは、マイクロコズムと呼ばれる安定微生物生態系を用いる影響評価試験手法を用いた検討を行った。

マイクロコズムとは、小さいという意味の micro と宇宙を意味する cosm を語源としており、単なる生物培養系ではなく、生態系における物理的、化学的、生物的要因とそれらの相互作用の一部を包含しており、生態系に係わる研究の実験材料として検討が進められてきた。マイクロコズムの中にもいくつかの種類があるが、既知の構成種からなるフラスコマイクロコズムすなわち生産者としての藻類、分解者としての細菌類、捕食者としての微小動物から構成された再現性のある系^{3)~4)}を実験系として影響評価手法に活用することとした。マイクロコズムを用いて、遺伝子組み替え細菌の生態系に及ぼす影響についてはすでに検討を行ってきた⁵⁾が、化学物質の検討はほとんど行われていない。

本研究では、上記の点に鑑み微量汚染化学物質の中で特に農薬に着目した。供試農薬として、環境水質基準⁶⁾が示された除草剤シマジン、ベンチオカーブを用い、二者培養試験とマイクロコズム試験を行い農薬の生態系への影響評価に対するマイクロコズム試験の有用性を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

2.1 マイクロコズム培養試験

マイクロコズム構成生物を Table 1 に示す。構成生物は、生産者としての藻類 2 種、分解者としての細菌類 4 種、捕食者としての原生動物 1 種、後生動物 3 種からなっている。マイクロコズムの培養に用いた Taub 培地⁷⁾の組成を Table 2 に示す。培養には三角フラスコを用い、この培地 200ml に 10ml の 2 カ月間継代培養しているマイクロコズムを接種したものを使用した。培養条件を Table 3 に示す。

生物の計数は、培養 0 日目と、2~7 日目ごとに行った。

農薬の添加は、マイクロコズムの構成生物の個体数が定常を示してから行った。農薬はメタノール溶液(和光純薬、残留農薬試験用 300)で希釈し、培地へ添加後のメタノール濃度が 0.32% になるように調製した。添

Table 1 Composition of species in small-scale microcosm system

Strains	
Predator	
<i>Cyclidium glaucoma</i>	
<i>Lepadella</i> sp.	
<i>Philodina</i> sp.	
<i>Aeolosoma hemprichi</i>	
Producer	
<i>Chlorella</i> sp.	
<i>Tolypothrix</i> sp.	
Decomposer	
<i>Pseudomonas putida</i>	
<i>Bacillus cereus</i>	
<i>Acinetobacter</i> sp.	
Coryneform bacteria	

加農薬濃度は、シマジン(和光純薬、農薬標準品)では 0.08, 0.16, 0.32, 0.64, 1.28mg·l⁻¹の 5 濃度とした。ベンチオカーブ(和光純薬、農薬標準品)では、0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0mg·l⁻¹の 5 濃度とした。農薬の挙動実験については、各農薬の添加濃度を 1.0 mg·l⁻¹とし、添加後 2~7 日目ごとにそれぞれの分析を行った。

2.2 二者培養試験

構成生物は、分解者としてのマイクロコズム構成細菌類 4 種と、捕食者としての原生動物 *Cyclidium glaucoma* からなっている。細菌類、原生動物は前培養を行い、それぞれ細菌数、個体数を調製し培地に添加した。培養には三角フラスコ 50ml を用い、Taub 培地 1 l に対しペプトン 50ml を加えた培地 15.5ml にて 25°C 暗所静置で行った。個体数の計数法はマイクロコズムでの計数法と同様に行なった。計数は、培養開始から 4 日目まで 12 時間ごとに行なった。農薬は培養初期から添加し、添加濃度は、シマジンでは 0.08, 0.16, 0.32, 0.64, 1.28mg·l⁻¹とした。ベンチオカーブでは、0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0mg·l⁻¹とした。

2.3 計測方法

2.3.1 構成生物の計測

マイクロコズム内の生物は、それぞれ以下の方法で計数した。

1) 細菌類

Table 2 Composition of Taub's basal medium

a. stock solution

A solution $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	24.65
B solution KH_2PO_4	13.6
NaOH	2.8
C solution $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	14.7
D solution NaCl	5.84
E solution $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	24.9
Na ₂ EDTA	13.6
F solution H_3BO_3	1.854
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.287
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.98
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.024
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.0499
$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	0.291

 $g \cdot 1^{-1}$ D.W.

b. Taub's basal medium

A solution	1
B solution	1
C solution	20
D solution	30
E solution	0.125
F solution	0.5

 $ml \cdot 1^{-1}$ D.W.
pH 7.0

Table 3 Culture condition

Temperature	25°C
Luminous intensity	2800lux (alternate light (cool-white fluorescent lamp) and dark every 12 hours)
Cultivation	static
Receptacle	300ml Erlenmeyer flask (sealed with cotton plug)
Culture medium	200ml Taub's basal medium containing polypeptone (50mg · 1 ⁻¹)

試料を 1 ml 採り、10倍希釈法で調製した後、Peptone-yeast extract 培地を用いて25°Cで5日間平板培養を行いコロニー数を計数し菌数が30~300N·ml⁻¹のものについて平均して試料 1 ml 当たりの生菌数を算出した。2段階の希釈試料の菌数が30~300N·ml⁻¹の範囲に入った場合には、希釈倍率の高い方を採用した。

2) 緑藻類、糸状らん藻類

試料を試験管に採り、10秒間超音波破碎した後、血

球計数盤を用いて光学顕微鏡下で計数した。緑藻類は N·ml⁻¹、糸状らん藻類は cm·ml⁻¹で表した。

3) 原生動物、後生動物

試料を 1 ml 採り、グリッド付き界線スライドグラスを用いて光学顕微鏡下で計数した。

2.3.2 農薬濃度の測定

2.3.2.1 試料の前処理

前処理としてジクロロメタン（和光純薬、残留農薬試験用300）による溶媒抽出法⁸⁾を用いた。懸濁液および

Table 4 Analytical condition

GC-MS	QP-1000 (Shimadzu Seisakusho)
Column	DB-5 0.25mm i. d. X 30m
Temperature	Oven:50°C(2min)-15°C/min-200°C(2min) -20°C/min-250°C
	Injection port:200°C
Carrier gas	He
Injection mode	Splitless (2min purge off)

上澄み液(生物群を除いた)については各試料を5ml試験管に採取し、ジクロロメタン2mlを加え1分間振とうした。静置後、懸濁液の分析についてはそのままジクロロメタン層を分析に供した。上澄み液の分析試料については、分取したジクロロメタン層を遠心分離(5,000rpm, 3min)したものを分析に用いた。生体内に蓄積された農薬も含めたマイクロコズム全体からの抽出は、サンプルを遠心分離し上澄み液と沈殿物に分けた。遠心分離によりかなりの生物は破碎されるが、破碎されない沈殿部分は乳鉢ですりつぶした。乳鉢を蒸留水で洗浄し洗液と上澄み液と合わせジクロロメタンを加え振とうした後ジクロロメタン層を遠心分離(5,000rpm, 3min)し抽出したものを用いた。

2.3.2.2 分析

農薬の分析には、ガスクロマトグラフ質量分析器によるSIM法⁸⁾を用いた。分析条件は、Table 4に示す。定量には内部標準法を用い、内部標準物質にはビフェニール(和光純薬、試薬特級)を用いた。定量に用いた質量数は、シマジン201m·z⁻¹、ベンチオカーブ100m·z⁻¹、ビフェニール154m·z⁻¹であった。

3. 結果および考察

マイクロコズムを構成する生物の中で捕食者として重要な位置づけにあり、かつ他の微小動物に比べて鋭敏に反応する原生動物*C. glaucoma*に着目し二者培養試験を行い、メタノール添加濃度の影響を検討した(Fig. 1)。メタノール濃度が0.4%以上になると原生動物*C. glaucoma*の増殖に阻害が現れてくることが明らかとなった。この結果から二者培養試験、マイクロコズム試験においては、農薬を添加する際の溶媒のメタノール量が常に培地の0.32%となるように農薬を希釈して添加試験を行った。同様に、原生動物*C. glaucoma*に増殖阻害を起こす農薬濃度を検討した(Fig. 2)。シマジンでは、添加できる最高濃度においても増殖阻害は起こらなかった。一方、ベンチオカーブでは、1.0mg·l⁻¹の濃度で増殖阻害が起き始めた。マイクロ

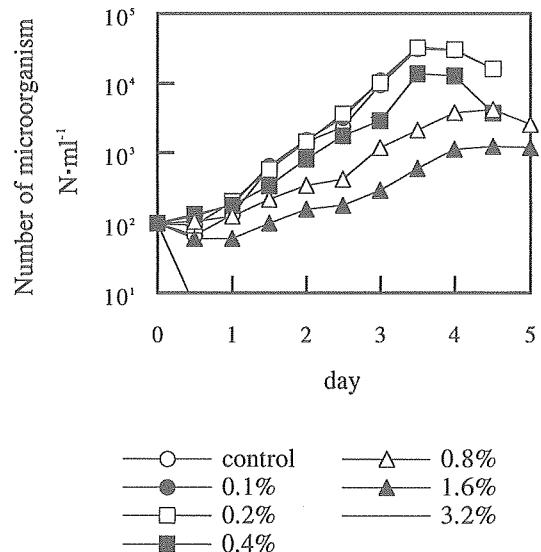


Fig. 1 Effects of various methanol concentrations on two species cultivation

コズム試験では、これらの結果を基にして添加農薬濃度を決定した。

3.1 マイクロコズムにおける生物相の挙動

3.1.1 メタノール添加系

二者培養試験で決定したメタノール濃度0.32%のメタノール添加系における構成生物の変化を無添加系と比較しメタノール添加の影響を検討した。メタノール添加系は、メタノール無添加系と比較しメタノールが細菌類の有機栄養源となるため、添加後15日目にはそれらを捕食する原生動物、後生動物の生物個体数は増加した。そのときの個体数は、それぞれ*C. glaucoma*では無添加系の約17倍の7.8×10N·ml⁻¹, *Lepadella* sp.では約4倍の1.5×10²N·ml⁻¹, *Philodina* sp.では約1.5倍の1.4×10N·ml⁻¹, *A. hemprichi*では約3倍の5.2N·ml⁻¹となった。このメタノール濃度0.32%のメタノール添加系を農薬添加系の対照系として用いた。このように溶媒としてメタノールを用いる事によ

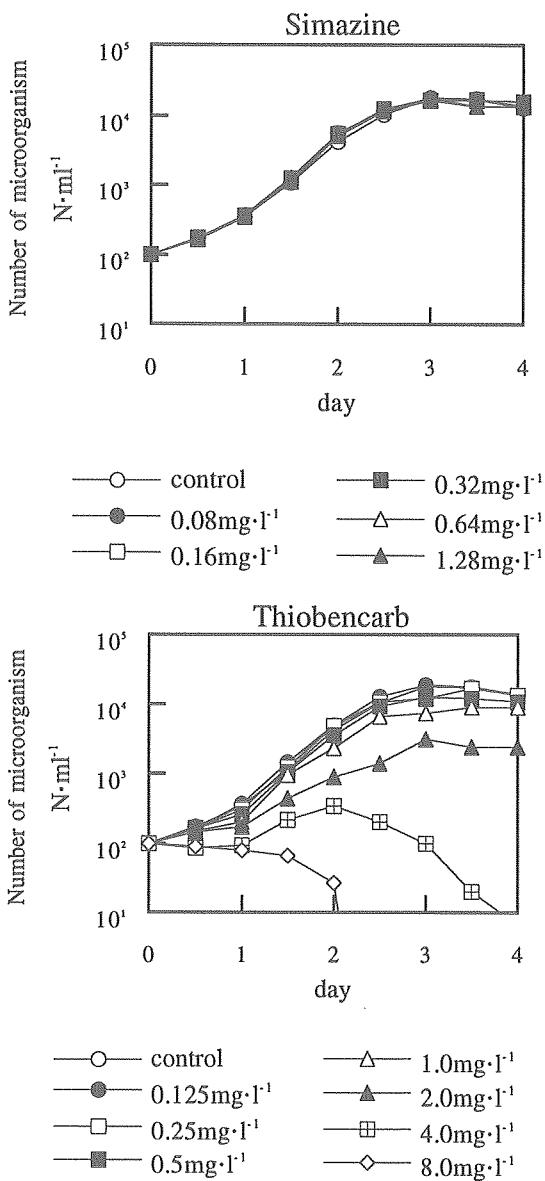


Fig. 2 Effects of various pesticides concentrations on the growth of *Cyclidium glaucoma*

り農薬の評価が可能となることがわかった。

3.1.2 シマジン添加系

各シマジン添加濃度における構成生物の個体数の変化を Fig. 3 に示す。添加後15日目の各農薬濃度における構成生物の個体数を Fig. 4 に示す。捕食者の中では原生動物 *C. glaucoma*, 微小後生動物 *Aeolosoma hemprichi* は、農薬添加濃度が低い場合に個体数が大きく減少し、微小後生動物 *Lepadella* sp., *Phirodina* sp. の個体数は増加する傾向を示した。二者培養の結果から

シマジンが直接 *C. glaucoma* に対して増殖阻害を起こさせないことが明らかなので、微小動物間の相互作用としての競争に農薬添加が大きく影響したものと考えられる。さらに、最小添加濃度である $0.08 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ において生産者である *Tolypothrix* sp. に影響がみられ、農薬添加後15日目の個体数は対照系の $1/40$ に減少した。シマジンの除草機構は、光合成阻害によるので藻類に対しても同様の効果が発揮されたものと考えられる。同じ藻類である *Chlorella* sp. は、高濃度になると増殖に阻害がみられるが、*Tolypothrix* sp. ほど大きな影響はみられていない。*Chlorella* sp. は、殺藻剤に強い種類であることが知られており同様の結果と考えられる。*Tolypothrix* sp. の変化は他の構成生物に対して大きな影響を与えない⁴⁾ことから、ここで起きた捕食者の変動に対して大きな影響を与えたとは考えられない。

3.1.3 ベンチオカーブ添加系

各ベンチオカーブ添加濃度における構成生物の個体数の変化を Fig. 5 に示す。添加後15日目の各農薬濃度における構成生物の個体数を Fig. 6 に示す。

C. glaucoma は、農薬濃度 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ までは増殖阻害は見られなかった。 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の濃度になると添加後4日目に一度消滅し11日目に $1.1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ と再増殖が見られた。 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上の濃度では添加後1~2日で消滅した。二者培養試験では、農薬濃度 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ で影響が見られたことから、マイクロコズム試験では増殖阻害が明らかに緩和された。

A. hemprichi は、農薬濃度 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ では徐々に減少し7日目に、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ では4日目に、 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以上の濃度では1~2日目に消滅した。

Lepadella sp. は、濃度 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ までは影響は見られなかった。 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ では、添加後7日目までは徐々に減少したがその後 $3.0 \text{ N} \cdot \text{mL}^{-1}$ まで回復した。 $8.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ では、1~2日で一度消滅し4日目に再増殖を示したが最終的に消滅した。

Philodina sp. は、 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ では対照系よりも増殖した。この原因是、他の捕食者の減少に由来すると考えられる。 $8.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ では、*Philodina* sp. も1~2日で消滅した。

Chlorella sp. は、すべての添加濃度において同程度の影響を受け、対照系の約30%に減少した。*Tolypothrix* sp. は、2~4倍に増殖した。農薬添加15日目のマイクロコズムの外観は、すべての添加濃度で褐色を示した。これは、*Chlorella* sp. のクロロフィルの緑色の脱落と、*Tolypothrix* sp. の褐色が優占したためと考えられた。

シマジンとベンチオカーブとのマイクロコズムに対

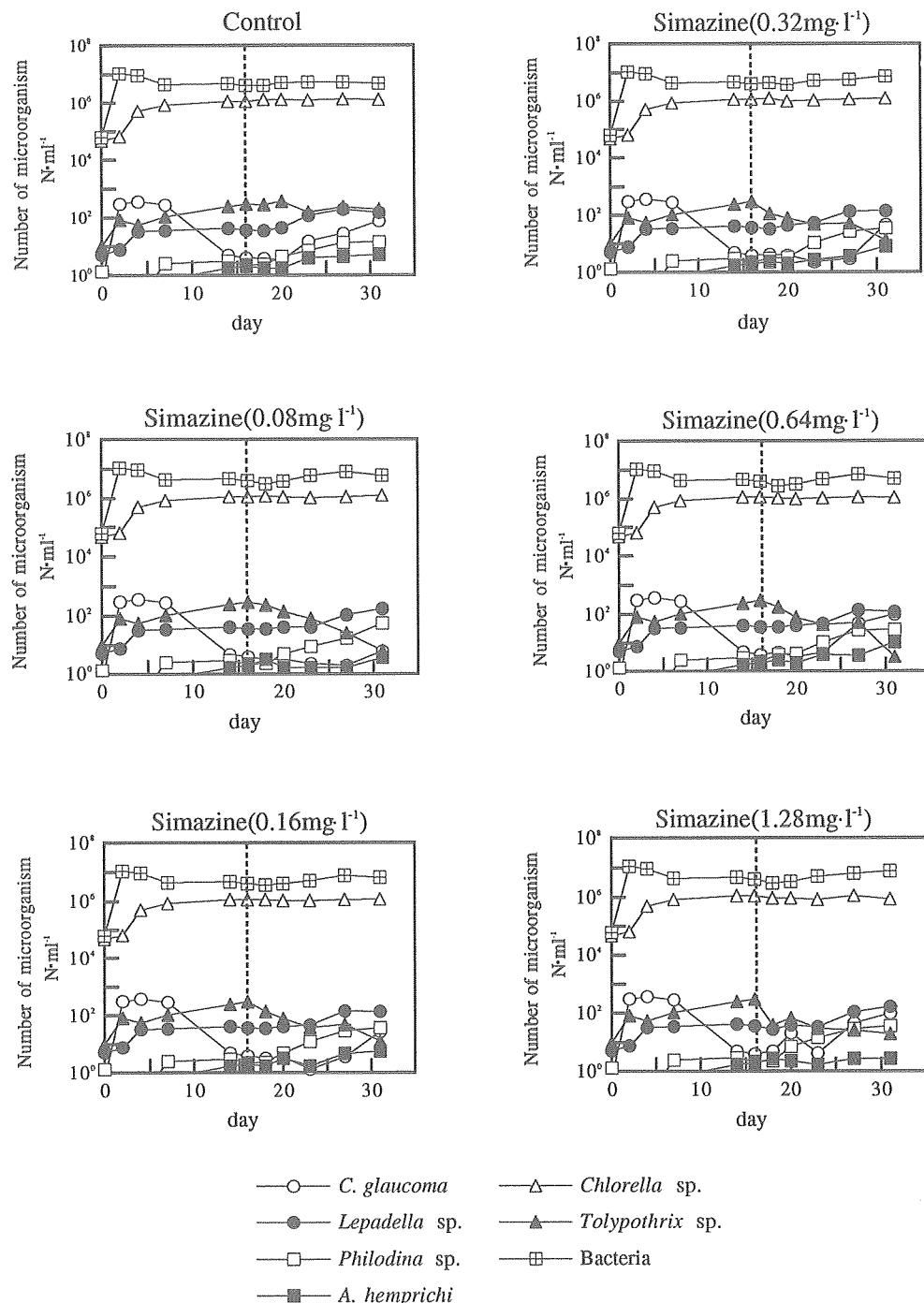


Fig. 3 Variation of number of microbiota in microcosm systems caused by various concentrations of Simazine

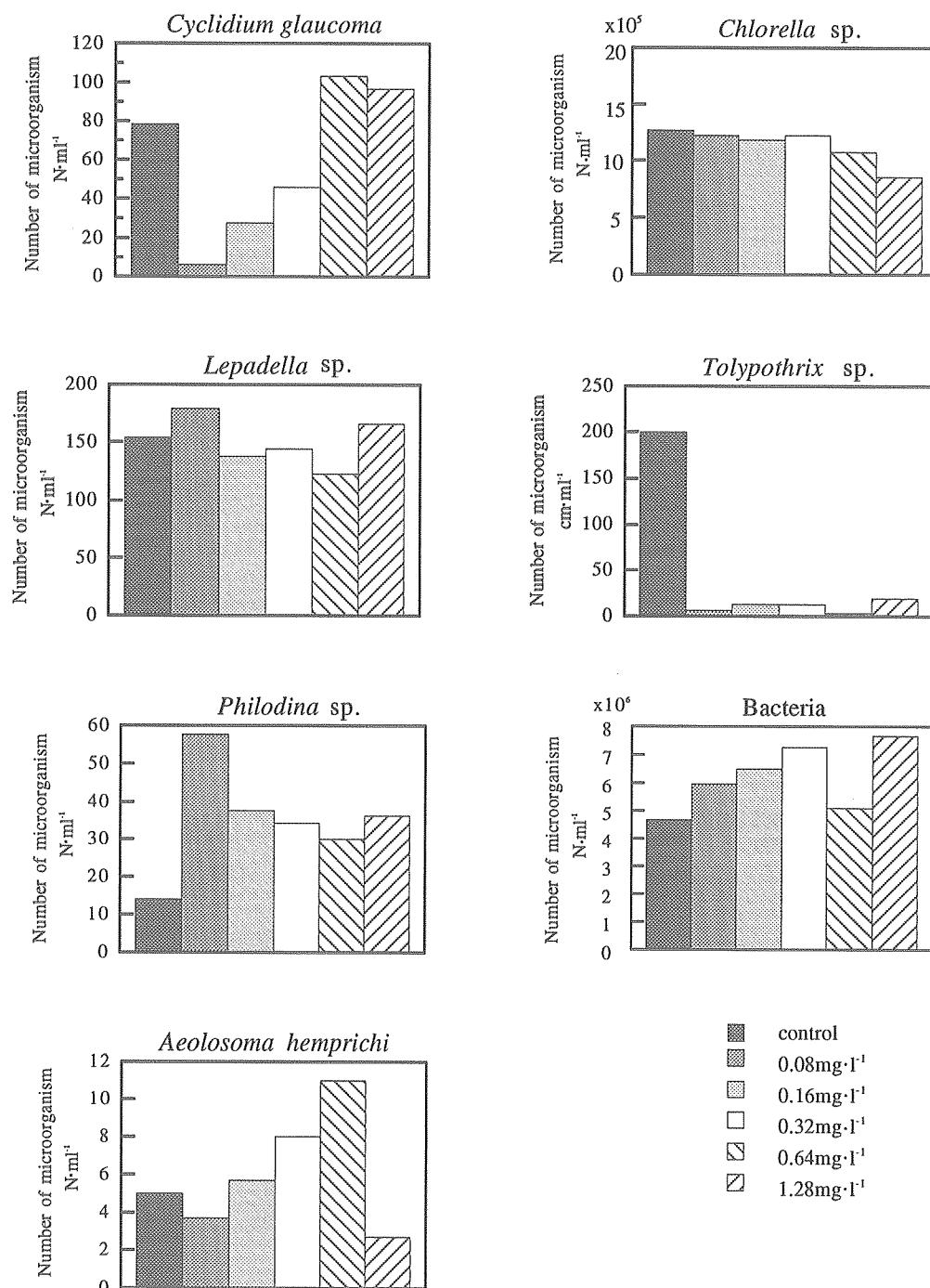


Fig. 4 Comparison of number of microbiota in microcosm systems for 15days after Simazine addition

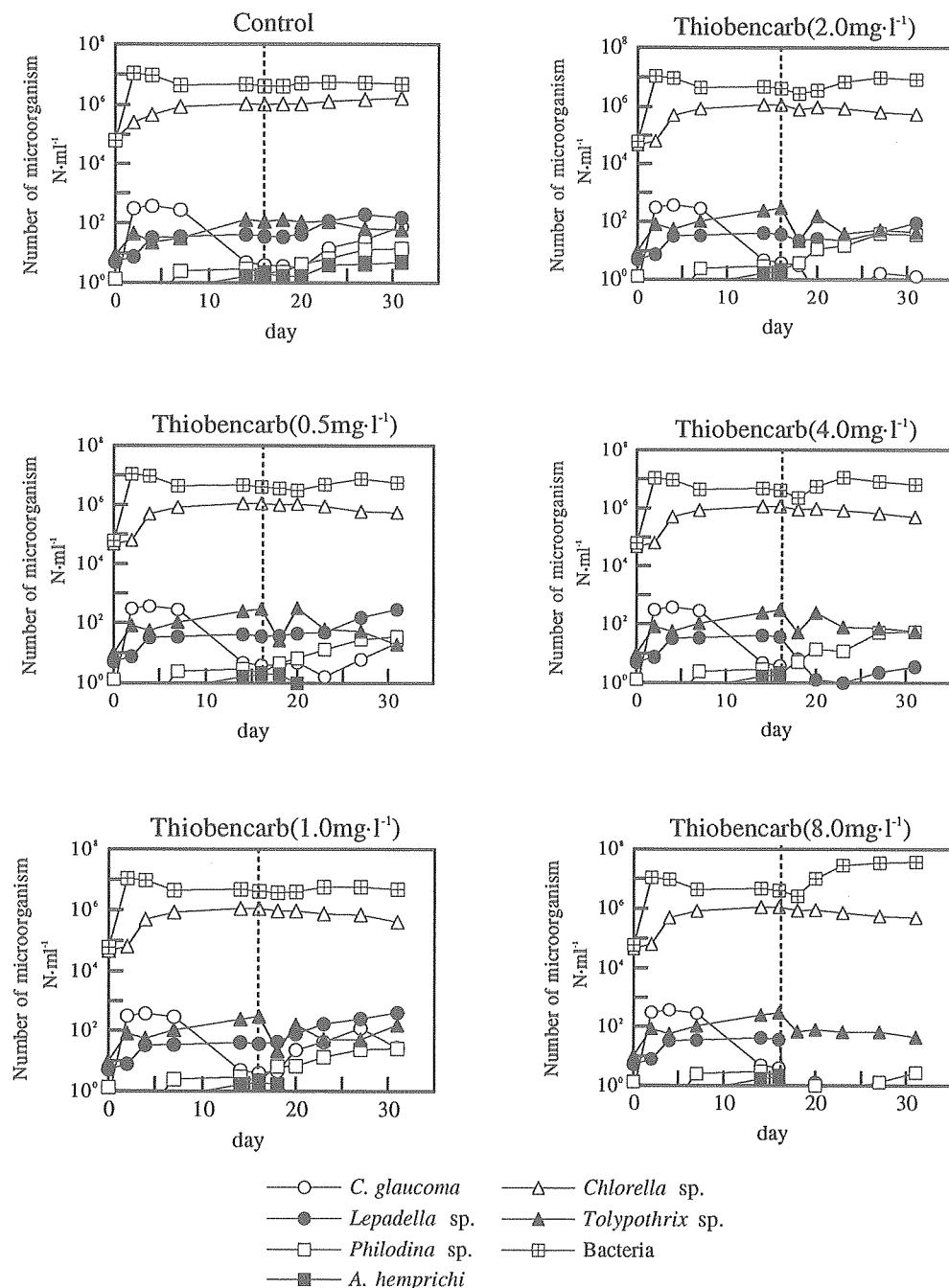


Fig. 5 Variation of number of microbiota in microcosm systems caused by various concentrations of Thiobencarb

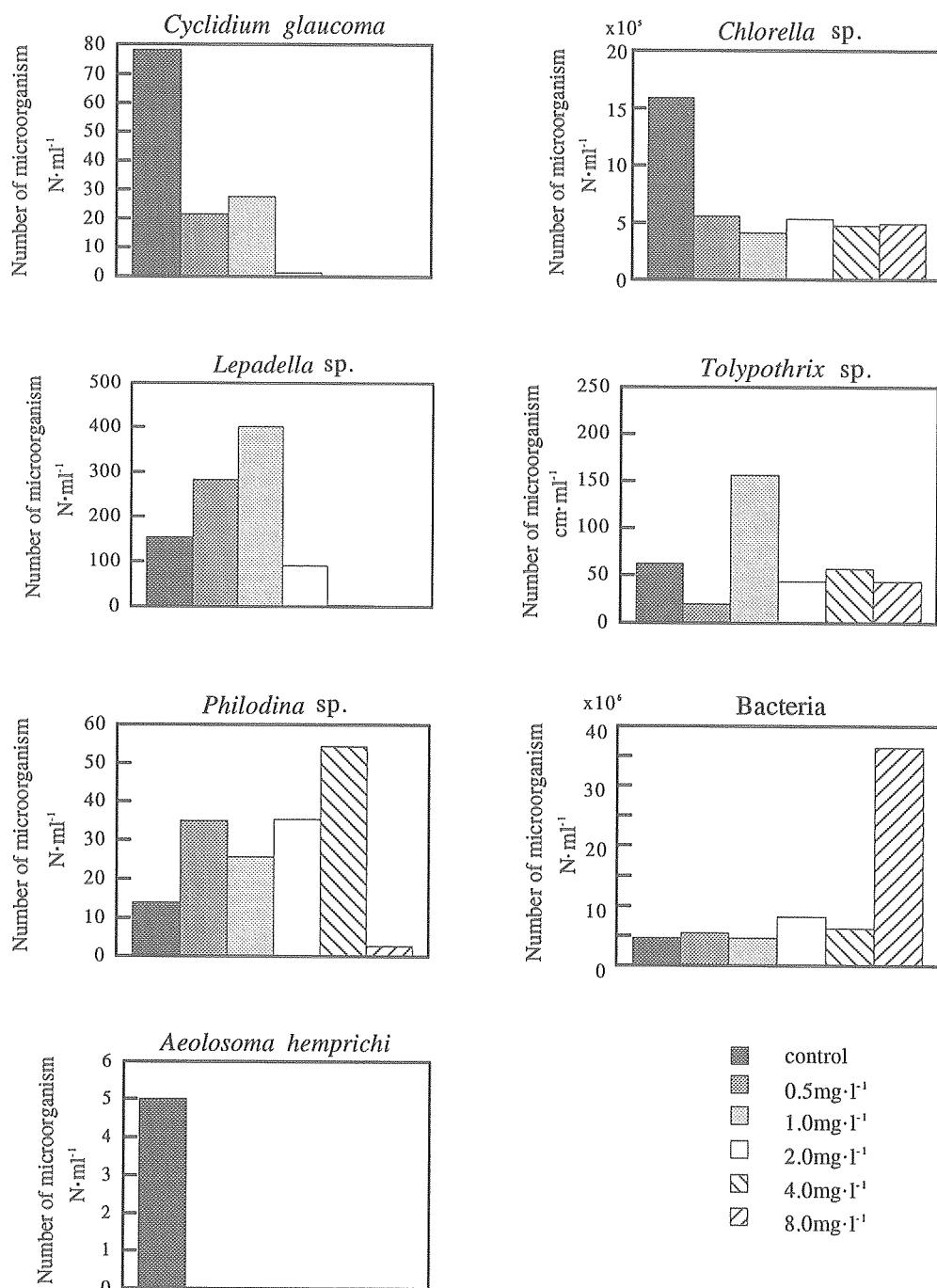


Fig. 6 Comparison of number of microbiota in microcosm systems for 15days after Thiobencarb addition

する影響の違いは、ベンチオカーブの除草機構がタンパク質生合成阻害⁹⁾によることから、シマジンとの作用機構の違いによるものと考えられた。

3.2 マイクロコズムにおける農薬の挙動

3.2.1 シマジン添加系

農薬を添加濃度 $1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ として、マイクロコズム内での農薬の挙動を検討した。滅菌水にシマジンを添加したものを対照系とし、マイクロコズムの上澄み液、懸濁液のシマジン濃度の差から生物への吸着や濃縮を評価する事を試みた。結果をFig. 7に示す。シマジンの溶媒抽出での回収率は60~80%で安定しており、上澄み液、懸濁液のどちらについても対照との差はなく、経日変化は見られなかった。このことから、シマジンはマイクロコズム構成生物による生物分解や生物への吸着が起きていないこと、光分解も12時間照射を15日

間行っても起きていないことから水系で安定であると評価できた。

3.2.2 ベンチオカーブ添加系

シマジンと同様に添加濃度 $1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ として経日変化を検討した(Fig. 7)。ベンチオカーブの滅菌水での回収率は、ほぼ100%であった。ベンチオカーブについても上澄み液、懸濁液での差は見られなかつたが濃度は徐々に減少し、15日目には添加濃度の約30%になつた。ベンチオカーブの分解物をGC-MSにより検索したが、ジクロロメタン抽出液からは減少量に見合うような化合物やベンチオカーブの構造の一部を持つような化合物は見いだせなかつた。ベンチオカーブは、光分解は起こさない¹⁰⁾ので生物により分解され今回用いた抽出法では抽出されない化合物に変化したか、ジクロロメタンで抽出されない形態で生物内に取り込まれていると考えられた。水系では、ベンチオカーブは徐々に生物により減少していくといえる。

3.3 マイクロコズムによる農薬の評価

マイクロコズムにおける生物相および農薬の挙動は上述したとおりであるが、これらの知見を基に水圈生態系に及ぼす影響を評価すると、農薬の種類により生態系に及ぼす影響が異なるが、どのような生物相の変動をもって影響がどの程度でたかを評価する上では、構成生物の(1)いづれかの種が減少後再び復帰する、(2)いづれかの種が減少したままになる、(3)生産者、分解者、捕食者のいづれも存在するがその中のいづれかの種が消失する、(4)生産者、分解者、捕食者のいづれかの系がすべて消失する、(5)すべての構成生物が消失するなどのパターンから解析する必要があると考えられる。(1)から(5)になるほど環境にたいする影響は大きいと考えられる。しかし、その中で生産者、分解者、捕食者のいづれの系に影響を与えた場合に影響が大きいと評価するか、またそれぞの系の中での種に順位をつけることが可能か、作用した農薬濃度との関係をどのように評価するかなどの詳細な評価については多くのデータの蓄積が必要と考えられる。さらに、最終的評価には、このほかの因子として影響が起る最低濃度、環境中での農薬の安定性についても考慮しなければならず、農薬の暴露濃度と時間の積のような因子が必要となってくると考えられる。ここでは、農薬の影響がでる濃度で評価したが、より低濃度の暴露実験を行うには、杉浦¹¹⁾のようにマイクロコズムの変動の微細な差を評価する必要もでてくるであろう。

本実験で用いた農薬について見ると、シマジンは生産者の藻類 *Tolyphothrix* sp. の減少にのみ影響を与え、ベンチオカーブは生産者の藻類 *Chlorella* sp. の減少と捕食者の後生動物 *A. hemprichi* の消滅に対して影響

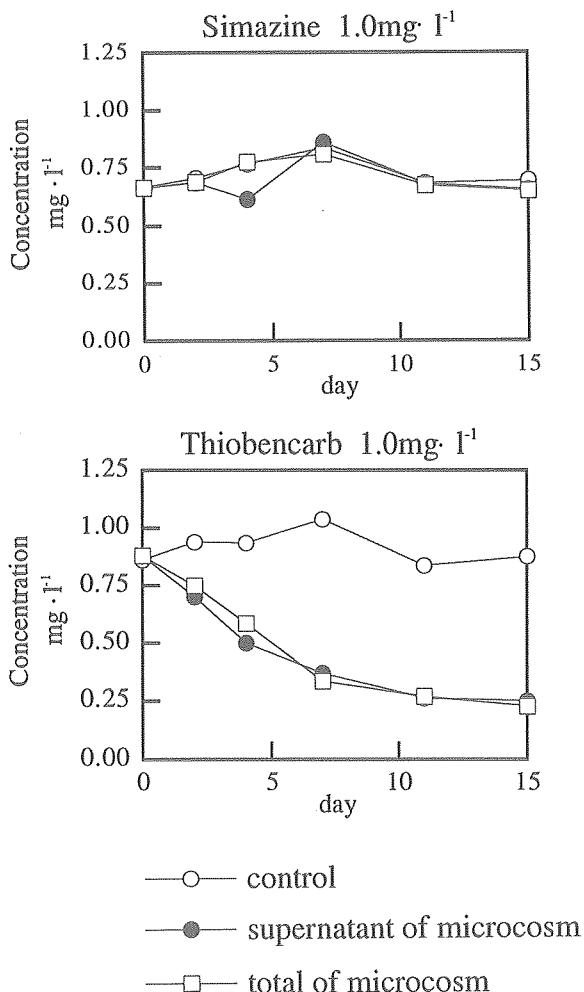


Fig. 7 Profiles of pesticides concentration

を与える。この結果からは、シマジンは(2)の段階にあり、ベンチオカーブでは(3)の段階で2系にまたがり影響を示している。生態系への影響が(3)の段階以上で起こると評価すれば、シマジンは実験を行った濃度の上限値である $1.28\text{mg}\cdot l^{-1}$ 以下では影響を与えない。一方、ベンチオカーブは実験を行った濃度の下限値である $0.5\text{mg}\cdot l^{-1}$ すでに生態系に影響を与えると評価できた。また、後生動物の *A.hemprichi* が水質浄化に寄与していること^{12),13)}を考慮すると、ベンチオカーブの生態系への影響の寄与は大きいと推察された。

従来からベンチオカーブでは、単独の毒性試験方法を用いて、藻類の *Selenastrum capricornutum* による増殖半阻害濃度 (EC_{50}) $0.017\text{mg}\cdot l^{-1}$ ¹⁴⁾ や、ミジンコの半致死濃度 (LC_{50}) $0.75\text{mg}\cdot l^{-1}$ ¹⁵⁾などの毒性試験値が得られている。このように、生物により影響を受ける濃度には大きな違いが見られるが、本マイクロコズムの構成種には特定物質に感受性の高い生物は含まれておらず、また構成種が水圏生態系を代表するものとは考えられないにしても、マイクロコズム試験を行うことは生態系に及ぼす影響を評価する上での指針になるものと考えられる。

水圏生態系の改善と修復を図っていくうえでは、水系にどの程度の有害物質が存在しても生態系の改善・修復が可能かを知ることが必要と考えられる。このことから本手法はそのような事前評価を行う上でも有効ではないかと考えられる。

4. まとめ

マイクロコズムを用いて除草剤の生態系に対する影響について検討を行い、以下の成果が得られた。

1) シマジン添加系では、*C.glaucoma* は二者培養、マイクロコズムともこの添加濃度範囲では影響は見られなかった。しかし、マイクロコズム試験では *Tolyphothrix* sp. に大きな影響が見られ、生産者である藻類に影響を与える事が明らかとなった。

2) ベンチオカーブ添加系では、*C.glaucoma* は二者培養試験で $1.0\text{mg}\cdot l^{-1}$ から、マイクロコズム試験で $2.0\text{mg}\cdot l^{-1}$ から影響が見られ、両者の濃度に違いが見られた。マイクロコズム試験では構成生物の多様性により影響が緩和されたものと考えられた。マイクロコズム試験では微小動物の *A.hemprichi* に影響がみられた。また、藻類の *Chlorella* sp. に頗著な影響が見られた。これらのことから捕食者である原生動物、後生動物と藻類の両方に影響を与える事が明らかとなった。

3) マイクロコズム内での農薬の挙動から、シマジンは生物による分解や吸着、取り込みは少なく水系に安定に存在すると考えられた。ベンチオカーブは、生

物による分解または吸着、取り込みが起き徐々に水系での濃度は減少すると考えられた。

これらのことからマイクロコズム試験は、構成生物の挙動から毒性の評価と生態系の生産者、捕食者、分解者のどこにもっとも影響を与えるかを評価できる。また、農薬の挙動から水圏生態系でのこれらの安定性についても評価でき、水圏生態系影響評価と同時に水環境の改善と修復を図る上で微生物浄化の許容濃度の評価に対して有効な手法である。

(原稿受付 1994年6月7日)

(原稿受理 1994年9月13日)

引用文献

- 茂岡忠義 (1991) 農薬の水生生態系への影響評価、水質汚濁研究, 14, 88-91.
- 安野正之 (1988) 水生生物に及ぼす有害汚染物質の毒性影響、水質汚濁研究, 11, 670-673.
- 福森悠平、須藤隆一、村上和仁、赤松俊昌 (1992) マイクロコズムにおける種構成と系の安定性、第26回日本水環境学会年会講演集, 522-523.
- Tanaka, N., Inamori, Y., Murakami, K., Akamatsu, T. and Kurihara, Y. (1994) Effect of species composition on stability and reproductivity of small-scale microcosm system, *Water Quality International'94*, in press.
- 稻森悠平、村上和仁、角田美奈子、佐藤瑠佳、栗原康 (1993) 遺伝子組み替え細菌と親株細菌の相互作用に関する研究、水環境学会誌, 16, 39-49.
- 早水輝好 (1993) 水質環境基準の改訂について、水環境学会誌, 16, 2-8.
- Taub, F.B. and Dollar, A.M. (1964) A *Chlorella-Daphnia* food chain study: The design of compatible chemically defined culture medium, *Limnology and Oceanography*, 9, 61-74.
- 日本水道協会 (1993) 上水試験方法, 327-333pp, 日本水道協会, 東京。
- 山本出、深見順一 (1979) 農薬-デザインと開発指針-, 350-352 pp, ソフトサイエンス社, 東京。
- 北森成治、石黒靖尚、大野健治、鳥羽峰樹、田中義人、近藤紘之 (1992) 農薬の水環境における分解に及ぼす物理化学的・生物学的因子の影響、用水と排水, 34, 477-484.
- Sugiyama, K. (1992) A Multispecies laboratory microcosm for screening ecotoxicological impact of chemicals, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11, 1217-1226.
- Inamori, Y., Kuniyasu, Y., Hayashi, N., Ohtake, H. and Sudo, R. (1990) Monoxenic and mixed cultures of the small metazoa *Philodina erythrophthalma* and *Aeolosoma hemprichi* isolated from a waste-water treatment process, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 34, 404-407.
- 京都フォーラム編 (1992) 共生と循環の思想を求めて, 217-239pp, NHK 出版, 東京。
- 畠山成久、福島悟、笠井文絵、白石寛明 (1992) 河川の藻類生産に及ぼす除草剤の影響評価、陸水学会誌, 53, 327-340.
- 金沢純 (1988) 農薬による水質汚濁と水生生物への影響、安全工学, 27, 344-353.