

汽水性動物プランクトンに対する塩分と農薬の共役的効果に関する研究

占部 城太郎, 鈴木 碩通

東北大学大学院生命科学研究所

概要

ネオニコチノイド系農薬は世界中で広く使用されているが、非標的生物にも悪影響を及ぼすことが指摘されている。これらの農薬は水田に散布された後、河川に流出し、最終的には河口域に到達する。しかし、これまでの研究の多くは淡水の生物を対象としており、河口など汽水域の生物に対する農薬の影響を調べた研究はほとんどない。

汽水域の生態系では、動物プランクトンが一次生産者を消費し、魚の餌となって生態系を支えている。そこで本研究では、汽水域の主要な動物プランクトンであるカイアシ類 *Sinocalanus tenellus* に対する塩分変化の影響と、ネオニコチノイドの中でもよく使用されているイミダクロプリドとの共役的影響を、急性毒性試験により調べた。

その結果、イミダクロプリド曝露と塩分濃度変化の影響は加算的で、ともに *S. tenellus* の生存率を有意に低下させることが明らかとなった。しかし、両者の影響を比較すると、塩分濃度変化の影響のほうがイミダクロプリド曝露の影響よりはるかに大きかった。実際、自然界で測定されたイミダクロプリド濃度では、塩分濃度にかかわらず、*S. tenellus* の生存率への影響は軽微であった。

これら結果は、汽水域の生態系におけるイミダクロプリドの悪影響を強調した先行研究を必ずしも支持していない。むしろ本研究は、塩分濃度の変化のほうが汽水域の生態系により大きな変化をもたらす可能性を示唆している。ただし、本研究は短期でのイミダクロプリドの影響しか評価していない。*S. tenellus* のような動物プランクトン種がイミダクロプリドなどの農薬に長期間曝露した場合の影響については、今後調べて行く必要がある。

1. 研究目的

ネオニコチノイド系農薬は世界中で広く使用されているが、昆虫などの標的生物以外にも影響を与えると指摘されている⁽¹⁾。これらの農薬は、水田等に散布されたのちに流出することで、河川や湖沼の水生生物に影響を及ぼすことが示唆されている。河川に流出した農薬は、河口域へと流下し、干潟などの汽水域の生物にも影響を与える可能性がある。しかし、これまでに行われてきた研究の多くは淡水性の生物を対象としており⁽²⁾、汽水性の生物に対する農薬の影響を実際に検証した研究はない。

動物プランクトンは汽水域でも一次生産者を消費し、魚類の餌となることでその生態系を支えている。したがって、農薬の流出は動物プランクトン種の減少を通じて沿岸生

態系全体に影響を及ぼす可能性がある⁽³⁾。しかし、これは農薬が動物プランクトン減少の主要因となるシナリオであり、実際に汽水性動物プランクトンに対して農薬が悪影響を及ぼしているのかはわかっていない。汽水域は塩分が経時的に変化しており、動物プランクトンの生存も塩分に強く影響される。そのため、農薬の影響を正確に評価するためには、塩分と農薬の共役的効果の検証が不可欠である。

本研究では汽水域の代表的動物プランクトンであるキスイヒゲナガケンミジンコ (*Sinocalanus tenellus*) を対象に、農薬の影響を様々な塩分条件下で調べた。実験は、最も一般的なネオニコチノイドであるイミダクロプリドを使用し、急性毒性試験及び個体群実験によって行った。急性毒

性試験では、3 地点(島根県・福井県・宮城県)から採集された成体を用いて、農薬と塩分の個体の生存への影響を検証した。個体群実験では、成長段階が異なる個体で構成されるキスイヒゲナガケンミジンコ個体群に対して農薬を暴露し、個体群レベルでの応答評価と成長段階ごとの影響評価を行った。

2. 研究方法

2.1 サンプル採集

急性毒性試験及び個体群実験には野外で採集したキスイヒゲナガケンミジンコを使用した。急性毒性試験用のサンプリングは 2022 年 9 月 30 日に水月湖(福井県)、2022 年 10 月 25 日に宍道湖(島根県)、2022 年 11 月 5 日に東谷地干潟(宮城県)で実施した(図 1)。キスイヒゲナガケンミジンコは 100 μm メッシュのプランクトンネットで採集するとともに、採集場所の塩分濃度もサ併せて測定した。採集したサンプルは実験室に持ち帰り、実験室の温度に 3 時間程度順化させた後に実験に供した。

個体群実験用のサンプルは 2023 年 11 月 14 日に東谷地干潟で採集した。サンプリングには 100 μm メッシュのプランクトンネットを使用し、塩分測定も同時に実施した。採集したサンプルは野外で採集した水(15 L)と共にガラス水槽にストックし、実験室環境に 48 時間順化させた。

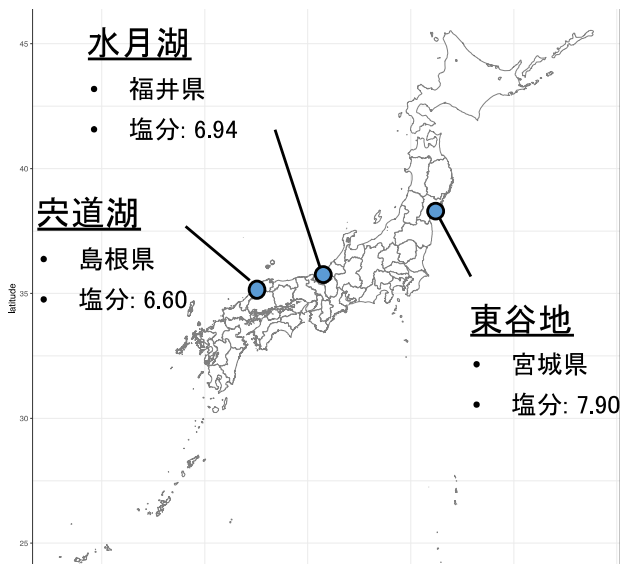


図 1. 急性毒性試験に用いたキスイヒゲナガケンミジンコの採集地点と採集時の塩分

2.2 ストック溶液作成

急性毒性試験と個体群実験を複数の塩分条件下で実施するため、各実験において人工海水を作成した。人工海水は GEX Artificial Saltwater with Neutralizer Ready to Use Tap Water, Dry Type 6.5 gal 36 g を 1 L の水道水に溶かすことで作成し、それを COMBO 培地⁽⁴⁾で希釈することで人工汽水を作成した。試験薬剤であるイミダクロプリドは富士フィルム和光純薬株式会社(98.0+%, CAS 105827-78-9)から購入した。イミダクロプリドのストック溶液は、各塩分条件の人工汽水 1 L にイミダクロプリドを 2 mg 溶解させることで作成した。用意したストック溶液は光分解を防ぐために実験開始時まで暗所に保管した⁽⁵⁾。ストック溶液は長期保存せず、実験回ごとに新しく作成した。

2.3 急性毒性試験

急性毒性試験は 3 地点(水月湖・宍道湖・東谷地)で採集したキスイヒゲナガケンミジンコそれぞれに対して実施した。この実験では、まず、イミダクロプリドのストック溶液と人工汽水を最終容量が 10 ml となるように Falcon@ 6-well plates に分注した。この際、ストック溶液の分量はイミダクロプリドの濃度が 0, 0.5, 5, 50, 100, 500 $\mu\text{g/L}$ となるように調整した。0 $\mu\text{g/L}$ はコントロールであり、最低濃度(0.5 $\mu\text{g/L}$)は地表水で検出された

ピーク濃度(0.63 $\mu\text{g/L}$;⁽¹⁾)、中間濃度(50 $\mu\text{g/L}$)は農薬散布直後の水田における濃度⁽⁶⁾に基づいて決定した。また、塩分変化の影響を検証するため、本実験では各イミダクロプリド処理において 5 段階の塩分処理(2.8, 5.7, 8.5, 11.3, 17 PSU)を設けた。

本実験では、試験生物としてキスイヒゲナガケンミジンコのメス成体を使用した。各処理では Falcon@ 6-well plates を 1 枚ずつ使用し、well 1 つにつき試験生物を 1 個体入れた。実験期間中に試験生物が餓死することを防ぐため、実験開始時には緑藻と珪藻を混合した飼料を与えた⁽⁷⁾。餌の添加後は気温 20°C、明暗サイクル 16 : 8、光強度 28 $\mu\text{mol/m}^2 \text{s}$ に設定したインキュベータ内に 96 時間静置し、その間は 24 時間ごとに試験生物の生死を確認した。

2.4 個体群実験

キスイヒゲナガケンミジンコが属するヒゲナガケンミジンコ類は、成体よりも幼生の方が薬剤暴露に対する感受性が高いことが知られている⁽⁸⁾。また、本種の成体は同種の

ノープリウス幼生を積極的に捕食する⁽⁹⁾。そこで、攪乱発生時のステージ構造を考慮した検証を行うことを目的として、様々なステージの個体を含むキスイヒゲナガケンミジンコ個体群に対するイミダクロプリド暴露実験を複数の塩分条件下で実施した。

本実験では 1 L の PVC ボトルを使用し、そこにイミダクロプリドストック溶液と人工汽水を最終容量が 500 ml となるように入れた。ストック溶液の分量は、イミダクロプリドの濃度が 0, 0.5, 5, 50 $\mu\text{g/L}$ となるように調整した。また、塩分条件は 3 段階(4.25, 8.5, 17 PSU)を実施した。以上の 12 処理(農薬 4 段階 \times 塩分 3 段階)では、それぞれ繰り返しを 3 本設けた。実験開始時には、ストック水槽中のサンプルをよく攪拌し、200 ml を抜き出して 41 μm メッシュで濃縮したキスイヒゲナガケンミジンコ個体群を試験培地が入った PVC ボトルに加えた。この際、同様の方法で 3 つのサブサンプルを採集し、それらを 95%エタノールで固定してステージ(成体 \cdot コペポデイド幼生 \cdot ノープリウス幼生)ごとに初期個体数を計数した。試験生物を加えたボトルは急性毒性試験と同様の条件に設定した恒温室に 96 時間静置した。96 時間後には各ボトルの内容物を 41 μm メッシュで全て濃縮し、顕微鏡観察下で死亡個体を取り除いた上で 95%エタノールを用いて固定した。その後各サンプル中のキスイヒゲナガケンミジンコについて、ステージごとに個体数を計数した。

2.5 統計解析

本研究の全ての解析は、統計解析ソフトの R version 4.2.1⁽¹⁰⁾ を用いて実施した。

急性毒性試験について、イミダクロプリドの暴露と塩分変化がキスイヒゲナガケンミジンコの生存に及ぼす影響を定量化するため、生死(死亡:1, 生存:0)を目的変数、イミダクロプリド濃度と塩分変化及びそれらの交互作用を説明変数、採集地点をランダム効果とした Cox の比例ハザードモデルを実行した。なお、イミダクロプリド濃度は $\log_{10}(x+1)$ 変換し、塩分変化は処理塩分と野外平均塩分(7.15 PSU)との差分を 2 乗することで求めた。本解析には R パッケージ *survival*⁽¹¹⁾ の *coxph* 関数を使用した。この解析により、各要因の死亡率に与える影響の指標であるハザード比を算出するとともに、response surface を用いた視覚化を行った。さらに、R パッケージ *survival*⁽¹¹⁾ の *survfit* を用いて生存曲線(カプランマイヤー曲線)を描画した。

個体群実験では、まず、線形モデルを用いてイミダクロプリドの暴露と塩分変化の影響をステージ別に検証した。この解析では実験終了時におけるキスイヒゲナガケンミジンコのステージ別個体数を目的変数、イミダクロプリド濃度と塩分変化、それらの交互作用を目的変数とした。Cox の比例ハザードモデルと同様に、イミダクロプリド濃度は $\log_{10}(x+1)$ 変換し、塩分変化は処理塩分と野外塩分(8.9 PSU)との差分を 2 乗して求めた。また、ステージ別の個体数は $\log(x+1)$ 変換して使用した。解析には R パッケージ *stats*⁽¹⁰⁾ の *lm* 関数を使用した。さらに、ステージ構造を評価した上でイミダクロプリドと塩分変化の影響を評価するため、R パッケージ *sem*⁽¹²⁾ の *sem* 関数を用いたパス解析による検証を行った。この解析では、実験終了時のキスイヒゲナガケンミジンコのステージ別個体数 ($\log(x+1)$ 変換) に対するイミダクロプリド濃度 ($\log_{10}(x+1)$ 変換) と塩分変化((野外塩分-処理塩分)²) のパスに加え、成長(ノープリウス幼生 \rightarrow コペポデイド幼生、コペポデイド幼生 \rightarrow 成体)と共食い(成体 \rightarrow ノープリウス幼生)のパスを設定した。各パスの有意性はイミダクロプリド濃度と塩分変化をランダムに並べ替える permutation test ($n = 2000$) によって評価した。

3. 研究結果

3.1 急性毒性試験

Cox の比例ハザードモデルによる検証の結果、イミダクロプリドの暴露と塩分変化は、どちらもキスイヒゲナガケンミジンコの生存に有意($p < 0.05$)な負の影響を与えていた(図 2, 表 1)。また、交互作用項は有意でなかったことから($p > 0.05$)、2 つの要因の効果は相加的であることが示唆された。また、イミダクロプリドと塩分変化のハザード比はそれぞれ 1.852 と 1.021 だった(表 1)。ハザード比は説明変数の値が 1 大きくなった場合に死亡率が何倍上昇するかを表す指標である。したがって、本研究の結果はイミダクロプリドの暴露濃度 ($\log_{10}(x+1)$ 変換) が 1 大きくなるごとに死亡率が 1.852 倍に、塩分変化量{(処理塩分)-(野外平均塩分)}が 1 大きくなるごとに死亡率が 1.021 倍になることを意味している。また、両変数の効果は相加的であるため、これらによる攪乱が同時に生じた場合の死亡増加率は両変数のハザード比の値の積となる。例えば、イミダクロプリド濃度が 1 $\mu\text{g/L}$ で塩分変化が 2 PSU の場合、死亡増加率は $1.852 \log_{10}(1+1) \times 1.0214 = 1.308$ となる。この結

果から、イミダクロプリド濃度と塩分変化量が連続的に変化した場合の死亡増加率を、response surface によって視覚化した(図 3)。その結果、死亡増加率の等値線は横軸の塩分変化に対してより密となっていた(図 3a)。また、日本の汽水域で観測されたレベルのイミダクロプリド濃度(宍道湖 = 0.149 $\mu\text{g/L}$; ⁽¹³⁾, 燧灘 = 0.267 $\mu\text{g/L}$; ⁽¹⁴⁾)での死亡増加率は 1.2 を下回っていた(図 3b)。一方、宍道湖で 1994 年に観測されたレベルの塩分変化(5 PSU; ⁽¹⁵⁾)での死亡増加率は 1.745 であり、塩分変化がキスイヒゲナガケンミジンコの生存に対してより大きな影響を及ぼしていた。

3.2 個体群実験

体群実験開始時の初期個体数はそれぞれ、成体が 25.7、コペポデイド幼生が 69.7、ノープリウス幼生が 37 だ

った(図 3)。また、実験終了後は全ての処理においてノープリウス幼生の個体数が激減していた(図 4)。線形モデルによる解析では、イミダクロプリド濃度、塩分変化、それらの交互作用のいずれの変数も有意な効果は見られなかった($p > 0.05$; 尤度比検定, 表 2)。

パス解析では塩分変化がコペポデイド幼生とノープリウス幼生の個体数に対して有意な負の効果を示した(図 4)。さらに、ノープリウス幼生から成体へのパス(成長)も有意であり、その係数は正の値だった。一方、この解析においてもイミダクロプリドはいずれのステージに対しても有意な影響を及ぼしていなかった(図 5)。

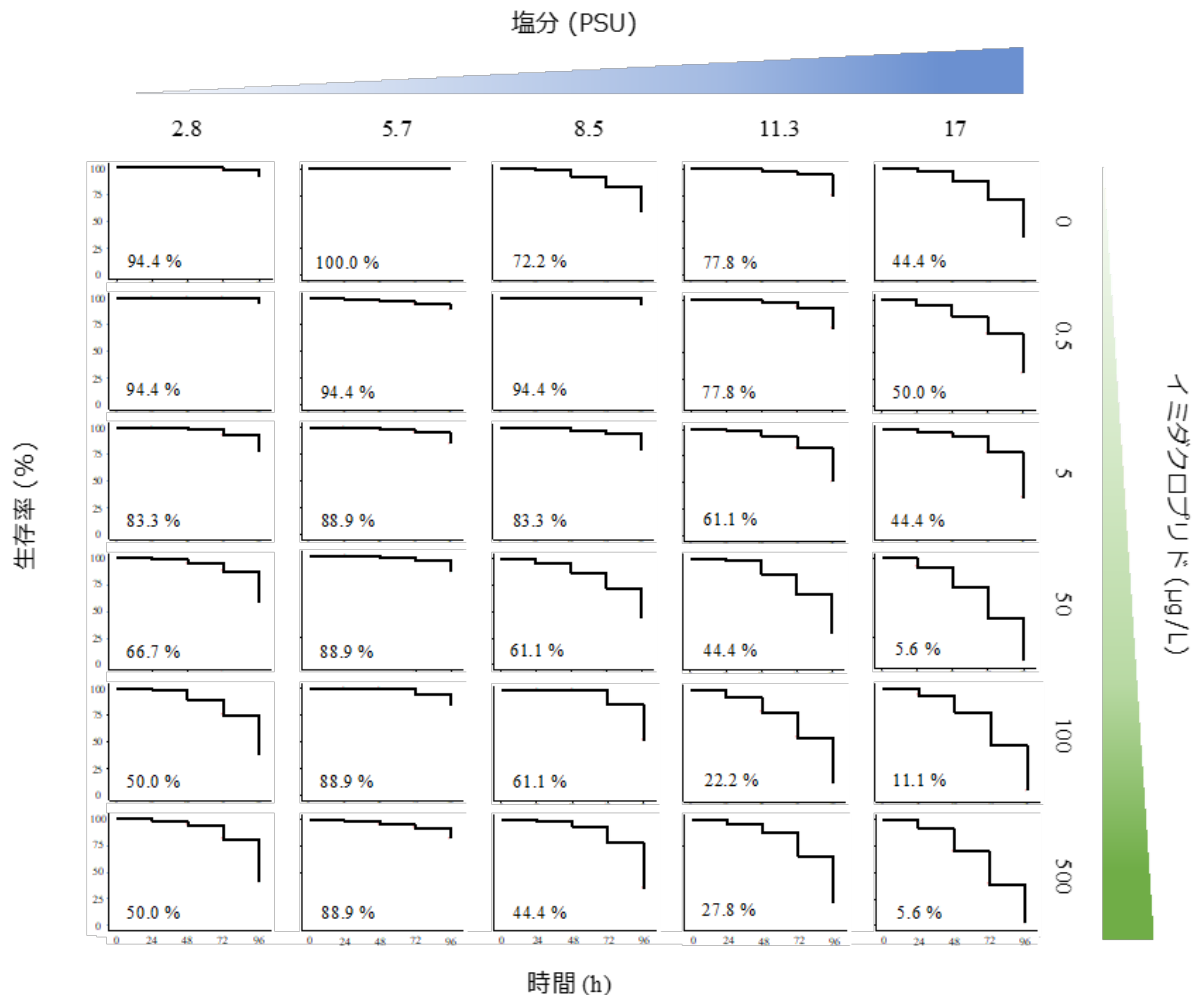


図 2. 急性毒性試験に基づく Kaplan-Meier 曲線。各パネルの縦軸は生残率、横軸は時間 (h)、右下の数字は実験開始から 96 時間後の生残率を表す。

表 1. Cox の比例ハザードモデルによるイミダクロプリドと塩分変化の影響評価

変数	ハザード比 (95%信頼区間)	χ^2	自由度	P値
イミダクロプリド濃度	1.852 (1.598-2.146)	67.190	1.000	< 0.001
塩分変化	1.021 (1.016-1.025)	79.390	1.000	< 0.001
交互作用	0.998 (0.703-1.000)	2.560	1.000	0.110

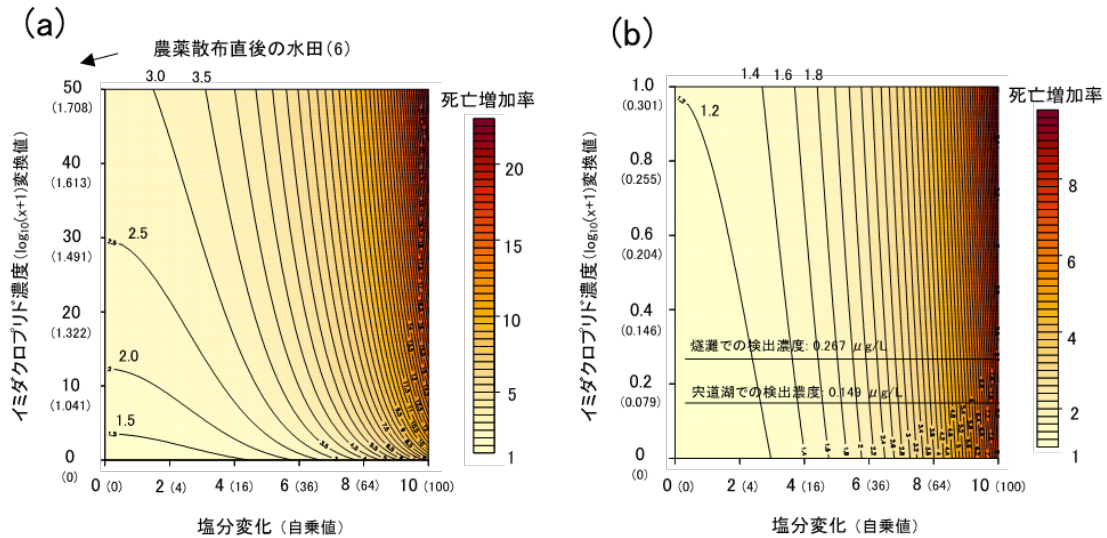


図 3. イミダクロプリド暴露及び塩分変化のハザード比から算出した死亡増加率を示した response surface
 横軸は塩分変化，縦軸はイミダクロプリド濃度を表す。(a)は縦軸が 0-50 µg/L (農薬散布直後の水田)，(b)は縦軸の範囲が 0-1 µg/L となっている。図中の曲線は死亡増加率の等値線。(b)には日本の宍道湖と燧灘で観測されたイミダクロプリド濃度を図中に実線で示した。

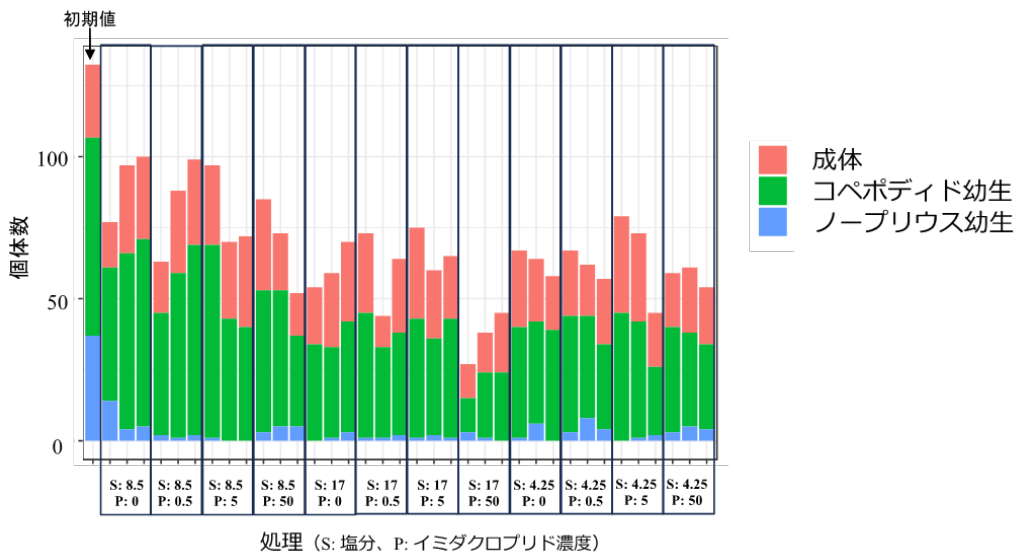


図 4. 個体群実験におけるキスイヒゲナガケンミジンコのステージ別初期個体数及び、実験終了時個体数
 横軸は各処理，縦軸は個体数を表す。

表 2. 線形モデルによるイミダクロプリド暴露と塩分変化のステージ別影響評価

成体				
変数	係数	標準誤差	t値	p値
切片	3.84	0.095	40.456	< 0.001
イミダクロプリド濃度	-0.07	0.101	-0.679	0.139
塩分変化	-0.0003	0.0006	-0.483	0.280
交互作用	-0.001	0.0006	-1.740	0.244

コペポデイド幼生				
変数	係数	標準誤差	t値	p値
切片	3.854	0.075	51.171	< 0.001
イミダクロプリド濃度	-0.115	0.080	-1.439	0.160
塩分変化	-0.00002	0.00002	-1.136	0.265
交互作用	-0.00003	0.00002	-1.729	0.094

ノープリウス幼生				
変数	係数	標準誤差	t値	p値
切片	1.176	0.199	5.919	< 0.001
イミダクロプリド濃度	0.063	0.211	0.297	0.769
塩分変化	-0.00006	0.00005	-1.157	0.256
交互作用	-0.00001	0.00005	-0.242	0.810

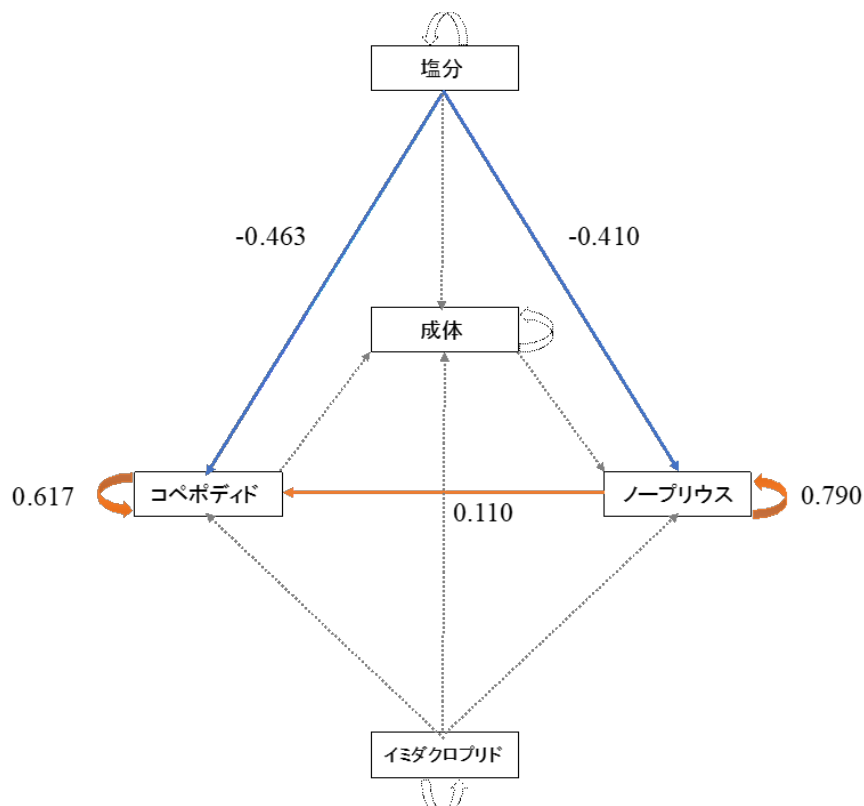


図 5. パス解析によるステージ構造を考慮したイミダクロプリドと塩分変化の影響評価。
 青矢印は有意な負の効果、橙矢印は有意な正の効果を表す。有意なパスには係数を表示した。

4. 考察

成体を対象とした急性毒性試験では、イミダクロプリドの暴露と塩分変化は、どちらもキスイヒゲナガケンミジンコの生存に有意な負の影響を及ぼすことが示された。この結果は、これらの要因がどちらもキスイヒゲナガケンミジンコにとってのリスクとなることを示唆している。しかし、野外で観測されるようなイミダクロプリドの濃度では、塩分変化の影響のほうがキスイヒゲナガケンミジンコの死亡率に対してより大きな影響を及ぼしていた。さらに、個体群実験によるステージ構造を考慮した解析では、イミダクロプリドの暴露は生残率に有意な影響を及ぼしていなかったが、塩分変化は特に幼生に対して有意な負の影響を与えていた。これらの結果は、野外で見られるレベルでのイミダクロプリドの短期的な暴露のリスクは、キスイヒゲナガケンミジンコでは低く、むしろ塩分変化のほうが支配的な影響を及ぼすことを強く示唆している。

本研究では塩分変化を{(処理塩分) - (野外塩分)}²としており、採集時の野外塩分濃度と比べて塩分が下がっても、また上がってもキスイヒゲナガケンミジンコは影響を受けることを示唆している。一般に、キスイヒゲナガケンミジンコは、淡水に近いような低塩分域から、塩分が10 PSUを超えるような比較的高塩分な水域まで幅広く分布することが知られている^{(16), (17)}。このことから、キスイヒゲナガケンミジンコは生息地の塩分にある程度適応しており、その値から塩分が変化すると浸透圧調節などのストレスかかり、それが生残に悪影響を及ぼしているのかもしれない。実際、本種の成長速度は、生息地で測定した塩分濃度に近い値で、最も高くなることが報告されている⁽¹⁸⁾。

急性毒性試験では、イミダクロプリドの暴露はキスイヒゲナガケンミジンコの生存に悪影響を及ぼすことが示唆された。しかし、Cox の比例ハザードモデルから得られたハザード比に基づく試算では、野外レベルのイミダクロプリドの短期暴露が及ぼす効果は限定的であると考えられる。淡水性動物プランクトンを対象にイミダクロプリドへの感受性を評価した研究では、キスイヒゲナガケンミジンコが属するヒゲナガケンミジンコ類は本薬剤に対する感受性が低いことが報告されている⁽⁷⁾。今回の検証で得られた結果は、この報告と一致する。また、個体群実験では、イミダクロプリドの短期暴露はキスイヒゲナガケンミジンコの幼生には有意な影響を与えないことが示唆された。一般的に、ヒゲナガ

ケンミジンコ類の幼生は成体よりも薬剤暴露への感受性が高い⁽⁸⁾。そのため、イミダクロプリドの短期的な暴露のリスクは幼生の存在を加味したとしても、キスイヒゲナガケンミジンコ個体群にとって限定的であると考えられる。なお、本研究の結果は、宍道湖においてイミダクロプリドがキスイヒゲナガケンミジンコの激減を招いたという先行研究と反している⁽³⁾。しかし、この先行研究ではイミダクロプリドのキスイヒゲナガケンミジンコへの影響を直接的には検証しておらず、当時のバイオマスデータとイミダクロプリドの使用時期との関係のみに着目して議論がなされている。さらに、宍道湖ではイミダクロプリド使用開始年の翌年(1994年)に渇水による塩分の急激な上昇が生じている⁽¹⁶⁾。これらの知見と本研究の結果を較べると、宍道湖におけるキスイヒゲナガケンミジンコの激減は、実際には渇水に伴う塩分の急激な変化によってもたらされた可能性が高い。

5. 今後の課題

本研究における急性毒性試験と個体群実験の結果から、キスイヒゲナガケンミジンコの生存は、イミダクロプリドの暴露と塩分濃度変化の両方に影響されること、しかし野外でのリスクは塩分濃度変化の方がはるかに大きいことが示唆された。ただし、本研究ではイミダクロプリドの影響を短期暴露でしか評価していない。イミダクロプリド暴露の影響は長期暴露では短期暴露よりも1桁程度低い濃度で生じることが示唆されている⁽¹⁾。また、本研究では1世代の時間スケールでの影響を評価したが、産仔数など世代を超えた時間スケールでイミダクロプリドが悪影響を及ぼす可能性も否定できない。したがって、今後はより長期的な暴露が生じた場合にもキスイヒゲナガケンミジンコがイミダクロプリドに影響されにくいのかを検証する必要があるだろう。

6. 文献

- 1) Morrissey, C. A., P. Mineau, J. H. Devries, F. Sanchez-Bayo, M. Liess, M. C. Cavallaro, and K. Liber. 2015. "Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review." *Environmental International* 74: 291-303. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.024>.
- 2) Raby M., M. Nowierski, D. Perlov, X. Zhao, C. Hao, D. G. Poirier, P. K. Sibley. 2018. "Acute toxicity of 6 neonicotinoid insecticides to freshwater invertebrates" *Environmental Toxicology and Chemistry* 37(5): 1430-1445. <https://doi.org/10.1002/etc.4088>
- 3) Yamamuro, M., T. Komuro, H. Kamiya, T. Kato, H. Hasegawa, and Y. Kameda. 2019. "Neonicotinoids disrupt aquatic food webs and decrease fishery yields."

- Science* 366 (6465): 620-+.
<https://doi.org/10.1126/science.aax3442>.
- 4) Kilham, S. S., D. A. Kreeger, S. G. Lynn, C. E. Goulden, and L. Herrera. 1998. "COMBO: a defined freshwater culture medium for algae and zooplankton." *Hydrobiologia* 377: 147-159.
<https://doi.org/10.1023/A:1003231628456>.
 - 5) Lavine, B. K., T. Ding, and D. Jacobs. 2010. "LC-PDA-MS studies of the photochemical degradation of imidacloprid." *Analytical Letters* 43 (10-11): 1812-1821.
<https://doi.org/10.1080/00032711003654013>.
 - 6) Hayasaka, D., T. Korenaga, K. Suzuki, F. Saito, F. Sanchez-Bayo, and K. Goka. 2012. "Cumulative ecological impacts of two successive annual treatments of imidacloprid and fipronil on aquatic communities of paddy mesocosms." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80: 355-362.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.04.004>.
 - 7) Suzuki, H., W. Makino, S. Takahashi, J. Urabe. 2024. "Assessment of toxic effects of imidacloprid on freshwater zooplankton: An experimental test for 27 species." *Science of The Total Environment* 172378.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172378>
 - 8) Takahashi, H., K. H. Chang, and T. Hanazato. 2006. "Acute toxicity of the insecticide diazinon and carbaryl to calanoid and cyclopoid copepoda (Eodiaptomus, Mesocyclops and Thermocyclops) in different life stages." *Japanese Journal of Environmental Toxicology* 9 (2): 133-139.
 - 9) Hada, A. 1991. "Effect of cannibalism on the laboratory cultured population of the brackish-water copepod *Sinocalanus tenellus*." *Bulletin of Plankton Society of Japan* 38(1): 43-52.
 - 10) R Core Team, A, and R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. 2012.
 - 11) Therneau, T.M., T. Lumley, A. Elizabeth, C. Cynthia. 2023. "A Package for Survival Analysis in R." R package version 3.5-7. <https://CRAN.R-project.org/package=survival>.
 - 12) Fox, J., Z. Nie, J. Byrnes. 2022. "Sem: Structural Equation Models." R package version 3.1-15. <https://CRAN.R-project.org/package=sem>.
 - 13) 土井慎一・石原正彦・江角敏明・神谷宏・山室真澄 (2018). "宍道湖水におけるネオニコチノイド濃度の予備的報告." *陸水学雑誌*, 79: 179-183.
 - 14) Hano, T., K. Ito, N. Ohkubo, H. Sakaji, A. Watanabe, K. Takashima, T. Sato, T. Sugaya, K. Matsuki, T. Onduka. 2019. "Occurrence of neonicotinoids and fipronil in estuaries and their potential risks to aquatic invertebrates." *Environmental Pollution* 252: 205-215.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.067>
 - 15) 国土交通省中国地方整備局出雲河川事務所 (2008). "大橋川改修に関する環境検討委員会"
 - 16) Sakaguchi, S., H. Ueda, S. Ohtsuka, H. Y. Soh, Y. H. Yoon. 2011. "Zoogeography of planktonic brackish-water calanoid copepods in western Japan with comparison with neighboring Korean fauna." *Plankton and Benthos Research* 6(1): 18-25.
 - 17) Hada, A., S. Uye, T. Onbe. 1986. "The seasonal life cycle of *Sinocalanus tenellus* (Copepods: Calanoida) in a brackish-water pond." *Bulletin of Plankton Society of Japan* 33(1): 29-41.
 - 18) Kimoto, K., S. Uye, T. Onbe. 1986. "Growth characteristics of a brackish-water Calanoid copepod *Sinocalanus tenellus* in relation to temperature and salinity." *Bulletin of Plankton Society of Japan* 33(1): 43-57

Studies on the Conjugative Effects of Pesticides and Salinity on Brackish Water Zooplankton

Jotaro Urabe, Hiromichi Suzuki

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

Summary

Neonicotinoid pesticides are widely used around the world, but have been shown to affect non-target organisms. After being applied to rice fields, these pesticides can run off into rivers and eventually reach estuaries. However, although many studies to date have focused on freshwater organisms, few studies have examined the effects of pesticides on organisms in brackish water. In brackish ecosystems, zooplankton consume primary producers and serve as food for fish, thereby supporting the ecosystem. Therefore, we experimentally investigated the effects of salinity and imidacloprid, the most common neonicotinoid, on *Sinocalanus tenellus*, a common copepod zooplankton in brackish water. The results showed that both imidacloprid exposure and salinity changes significantly reduced the survival of *S. tenellus*. However, the effect of salinity changes was much greater than that of imidacloprid exposure. In fact, the survival rate of *S. tenellus* was only slightly altered at the concentration of imidacloprid found in nature at any salinities. These results do not support a previous study that highlighted the adverse effects of imidacloprid in brackish ecosystems. Rather, the present study suggests that changes in salinity are a much more important factor causing changes in brackish water ecosystems. Note that this study only evaluated the effects of imidacloprid at short-term exposures. Therefore, it will be necessary in the future to test whether zooplankton species such as *S. tenellus* are indeed less susceptible to imidacloprid when exposed for longer periods of time.