

種の感受性分布 (SSD) を用いた農薬の生態リスク評価

永井孝志 (国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 農業環境変動研究センター)

1. はじめに

近年、農薬等の不適切な使用によって生物多様性が劣化する可能性が指摘されるようになり、農林水産省では環境保全型農業として農薬の使用等による環境負荷の軽減に配慮した持続的な農業を推進している。現在の環境保全型農業においては、例えば慣行の栽培体系に比べて(化学合成)農薬の使用を5割低減することによって、特別栽培という表示が可能となる。このように、現時点の環境保全型農業では、農薬使用量(使用回数)の低減が優先的に行われているが、そもそも生態系保全を目的とした場合、低減の対象は「農薬使用量」ではなく、農薬使用に伴う「生態リスク」でなければならない。「農薬の使用量を減らす」、「より低毒性の農薬に切り替える」、「農薬の流出防止対策をとる」などの様々な環境保全型農業の体系における、生物多様性の保全効果と農業の生産性を定量的に解析していく事が望ましい。このような情報が得られるようになれば、農業生産への負の影響を抑え、効率的にリスクを減らす対策を主体的に選択することが可能となる。

リスクを定量的に表現するには確率論的リスク評価を行うのが有効である。これは、毒性や曝露などの様々な不確実性を確率的に表現し、環境中濃度が生物の毒性値を超過する確率はどのくらいかを定量的に評価する方法である(図1)。本講演では、確率論的リスク評価を行う際にキーとなる概念となる種の感受性分布(Species Sensitivity Distribution, SSD)について解説し、その生態リスク評価における活用について紹介する。

2. 種の感受性分布

農薬取締法に基づく「水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準(以下、水産登録保留基準)」の適用の下、平成17年より新たな農薬の水産動植物に対するリスク評価に基づいた基準値の設定が順次進められている¹⁾。現行の登録保留基準において、毒性に係る基準値は、魚類(メダカ又はコイ)、ミジンコ(オオミジンコ)、藻類(緑藻 *Pseudokirchneriella subcapitata*)のいわゆる「3点セット」の急性毒性試験結果によるLC50(半数致死濃度)値もしくはEC50(半数影響濃度)値を、それぞれの種間の感受性差に関する不確実係数(魚類と甲殻類は基本10、藻類は1)で除したものの最小値と設定され

Ecological risk assessment of pesticide using species sensitivity distribution

Takashi NAGAI (Institute for Agro-Environmental Sciences, NARO)

Abstract: Species sensitivity distribution (SSD) is a key concept of probabilistic analysis to quantify the ecological risk. I developed the method of probabilistic ecological risk assessment in Japan, and then, risk comparison among eleven herbicides was conducted using the developed method. One of the most important limitations of SSD application is the lack of sufficient toxicity data for SSD analysis. Thus, an ecotoxicity database was developed for the application of SSD to a wide range of pesticides. Moreover, an efficient bioassay method using 5 species of periphytic algae was developed to fill the data gap.

る。しかし、河川や湖沼などの水圏生態系には多種多様な生物が生息しているが、農薬の毒性は対象となる生物種によって極端に異なることが知られている。ここで殺虫剤イミダクロプリドを例に挙げると、水産登録保留基準値は $8500 \mu\text{g/L}$ と導出されたが（2017年7月時点で基準値は改訂作業中）、登録保留基準の $8500 \mu\text{g/L}$ を遵守していてもほとんどの甲殻類や水生昆虫が影響を受けてしまうことになる（図2）²⁾。

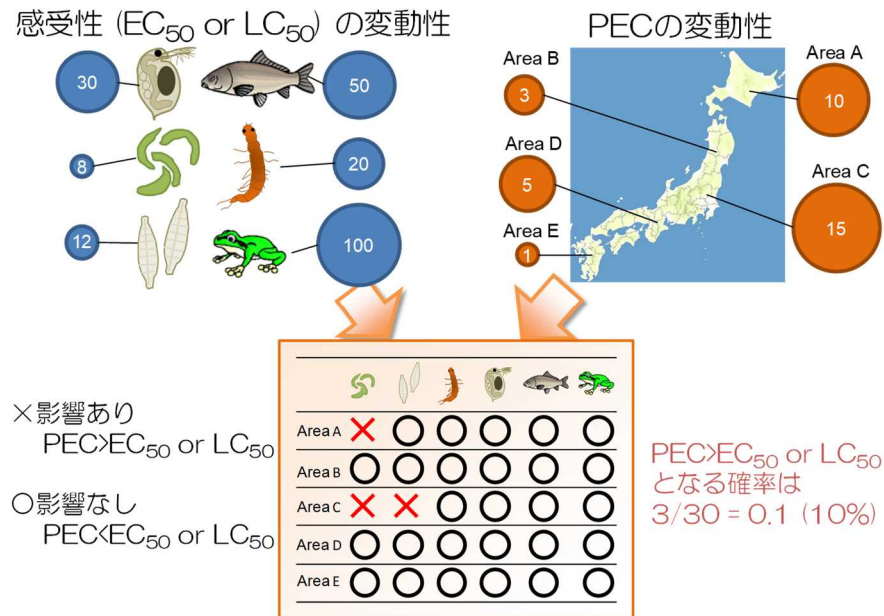


図1. 確率論的リスク評価の概念図。生物種による感受性の変動性と、環境中濃度（PEC）の地域差による変動性を考慮し、6生物種の感受性と5地域の環境中濃度を総当たりで評価した場合の「環境中濃度>毒性値」になる確率を表している。30通りの組み合わせのうち、3つの組み合わせで影響ありとなってしまうので、影響を受ける確率は $3/30 = 10\%$ になる。この確率の大小によって、生態リスクの大きさを相互比較することが可能となる。

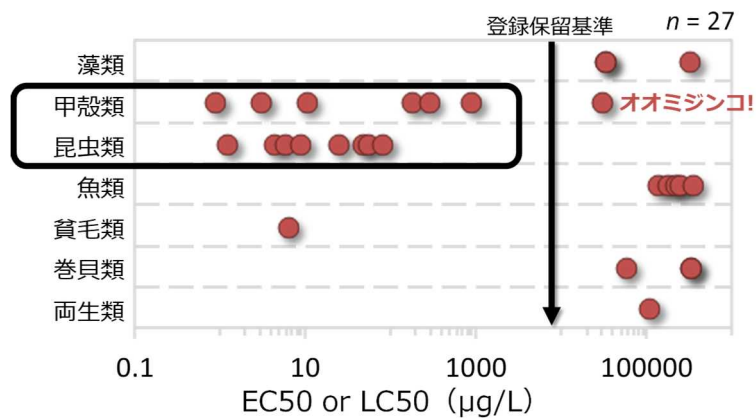


図2. イミダクロプリドの感受性種間差。1つのプロットが1種の感受性を示す。

このような問題点が挙げられる中で、水圏生態系に生息する全ての種に対する毒性試験を行うことは現実的には不可能である。その一方で、多数の生物種の化学物質に対する感受性は対数正規分布に適合することが経験的に知られており、図3のような累積確率分布として表現できる。このような生物種間の感受性差を統計学的に表現したものが SSD である³⁾。SSD の解析を行うにはある一定数以上の毒性データが揃っている必要がある。そして SSD の曲線は、農薬の濃度が上昇するにつれて影響を受ける生物種の割合が高くなっていくという関係を表現している。これを用いて、環境中の農薬の濃度から「影響を受ける種の割合 (potentially affected fraction, PAF)」を計算してこれをリスク指標とする活用法と、95%の種を保護する濃度（言い換えれば 5%の種が影響を受ける濃度, 5% Hazard Concentration, HC₅) を推定してリスク管理の目標値とする活用法がある (図3)。米国や欧州、オーストラリアなどにおいて、HC₅を予測無影響濃度とすることで、水生生物保全のための水質基準値の設定根拠として用いている⁴⁾⁵⁾⁶⁾。これは、95%以上の種を保護できれば、種の多様性には大きな影響は無い、という仮定に基づいている。HC₅の値を予測無影響濃度とすることの妥当性については、隔離実験水界を用いた模擬生態系試験 (メソコスム・マイクロコスム試験) との比較により、様々な農薬について HC₅がおおむね安全側に立った評価となっていることが確認されている²⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。また、農薬登録の場面においては、欧州で Regulatory Acceptable Concentration の導出のための高次評価法として活用されている¹¹⁾。

SSD を農薬に適用する場合には、除草剤では藻類やウキクサ等水生植物に対する毒性が特徴的に高いため、一次生産者とそれ以外で分布が分かれ、殺虫剤は節足動物に対する毒性が特徴的に高いため、節足動物とそれ以外で分布が分かれることが知られている (図4)²⁾¹²⁾。

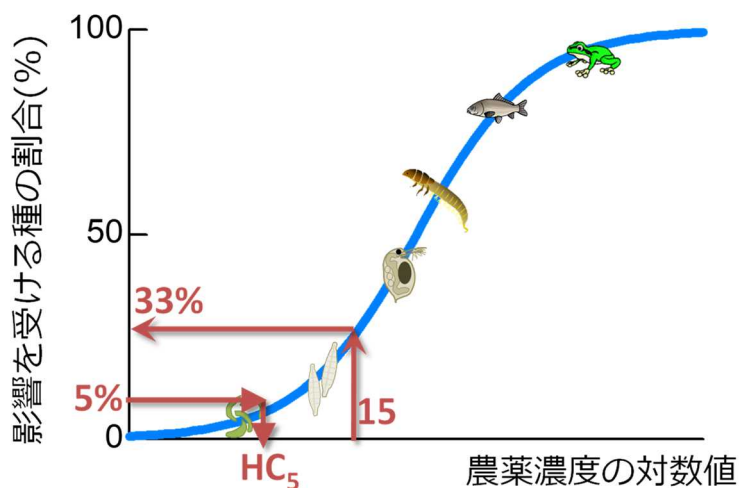


図3. 種の感受性分布の概念図。6種の生物を農薬によって影響を受けやすい順番に並べ、それぞれの種の毒性値に従って対数正規分布曲線に適合させた例 (注: あくまで概念的な例であり、生物種に対する感受性の順序は農薬の作用機作などにより大きく変化する)。

3. 確率論的リスク評価法の開発

高度な生態リスク評価のためには、図1に示したように毒性や曝露などの本来変動性を持つパラメータを一つに決定せずに分布として表現し、確率論的な評価を行うのが望ましいと考えられる。筆者の研

究では除草剤シメトリンを対象とし、毒性評価や曝露評価の不確実性を分析することにより確率論的な生態リスク評価手法を開発した（図4）¹²⁾。次に、得られるデータの質・量がバラバラである代表的な水稲用除草剤11種の確率論的生態リスク評価の手法論の検討を行った¹³⁾。既存のデータを最大限有効利用できる既存の推定方法を複数組み合わせることにより、足りないデータを補いながら横並びでリスクを評価する手法を構築した。曝露の分布とSSDを組み合わせたリスクカーブ（図5）の下の面積を計算することで、影響を受ける割合の期待値を求め、これをEPAF（Expected Potentially Affected Fraction）と表現した。ここでのEPAFは、全国平均的にどのくらいの割合の種が影響を受けるか、というリスクの定量的な指標として意味付けられる。各リスクの大きさに対応する地域毎のばらつき加減を見たい場合には、リスクカーブによるリスクの表現が適している一方で、リスクを一つの数字にまとめて比較したい場合にはEPAFによる表現がわかりやすい。

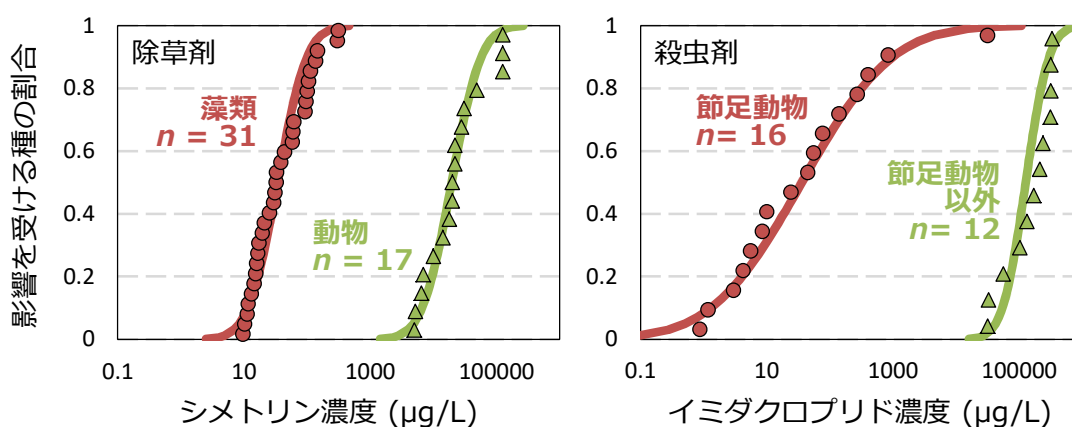


図4. 除草剤シメトリン（左）と殺虫剤イミダクロプリド（右）の種の感受性分布の解析例

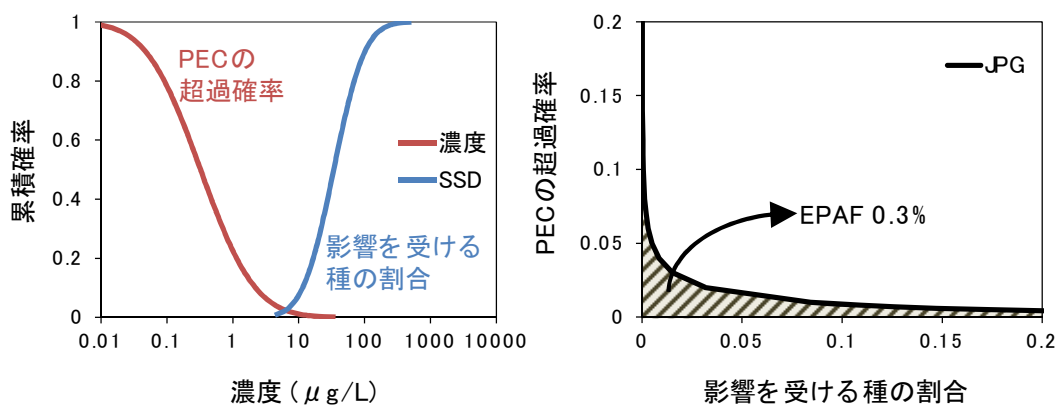


図5. 除草剤シメトリンを例にした、PECの超過確率とSSDの比較（左）とリスクカーブ（右）。PECの分布とSSDの重なりから、ある割合の種が影響を受ける濃度レベルの曝露を受ける確率を計算し、Joint Probability Curve（リスクカーブ）として表現した。

4. 毒性データベースの構築と SSD 解析

SSD 解析に必要なデータ数（種数）は各国のガイドライン等によって若干異なり、オランダでは 4 種類以上、デンマークとオーストラリアと OECD では 5 種類以上、米国では 8 種以上、EU では 10 種類以上となっている¹⁴⁾。様々な文献検討の結果、5 種のデータを用いた SSD はおおよそ妥当であることが支持されている^{14), 15)}。農薬の場合は前述のように、感受性の高い分類群のデータで解析する必要がある。すなわち、殺虫剤の場合は節足動物で 5 種以上、除草剤の場合は藻類で 5 種以上の毒性データが必要となる。殺菌剤の場合は分類群と感受性の関係が明確ではないため、全ての水生生物で 5 種類以上のデータが必要とみなす。ただし、このようなデータが揃う農薬はほとんど無く、確率論的リスク評価を幅広い農薬で行うためには、そもそもの毒性データの整備自体が大きな課題となった。

そこで筆者は、日本で主に使用されている水稲用農薬を対象とした生態毒性データベースの構築を行ってきた¹⁶⁾。本データベースの構築に当たっては SSD の活用を念頭に置いているため、なるべく多種類の生物のデータを収録するようにしている。データの収集にあたっては、データの信頼性の確保が重要である。そこで、全ての得られたデータについては、OECD の高生産量化学物質点検マニュアルに従って 4 段階の信頼性スコアを付けた。特に、原著論文などの各種文献の毒性試験データの信頼性の評価は Hobbs et al.¹⁷⁾に従いスコア法によって行った。収録データは、2017 年 7 月の時点で 2563 レコード（殺虫剤 1455、殺菌剤 176、除草剤 932）を収録し、農薬数は 82 種類（殺虫剤 35、殺菌剤 9、除草剤 38）である。生物の分類群別（総生物種数は 216 種）に見ると、藻類と水草を合わせた一次生産者で 585 レコード、甲殻類と水生昆虫を合わせた水生節足動物が 1104 レコード、魚類と両生類を合わせた脊椎動物が 678 レコード、その他（貝類、貧毛類、絨毛虫類、ワムシ類、ヒル類など）が 196 レコードである。

筆者は、SSD 解析のための標準となる 5 種のデータセットを提案した。農林水産省の試験ガイドライン¹⁸⁾では、水生節足動物についてはオオミジンコを始め、ヨコエビ、ヌカエビ、ユスリカ幼虫を用いた室内急性毒性試験のガイドラインがある。また、農業環境技術研究所では水生昆虫のコガタシマトビケラを用いた毒性試験のマニュアル¹⁹⁾を作成し、殺虫剤に対する感受性のデータを蓄積している。したがって、この 5 種の水生節足動物については、信頼性の高いデータを幅広い農薬について揃えることができる状態にある。よって、この 5 種のデータを用いて推定した SSD を標準 SSD とすることを提案した。

藻類の試験生物種についても SSD 解析のための標準データセットとして、生態学的重要性を考慮して 5 種類を選定した。生態学的重要性については、(1)日本の河川生態系に幅広く分布しよく観察されるもの；(2)幅広い分類群（珪藻、緑藻、シアノバクテリアなど）をカバーし、現実的な種構成（珪藻が優占）を反映すること；(3)好清水性種や好汚濁性種など、様々な環境条件をそれぞれ好む種を含むこと、を考慮した。日本における付着藻類の調査結果などから、緑藻 1 種（*Desmodesmus subspicatus*）、珪藻 3 種（*Achnanthydium minutissimum*, *Nitzschia palea*, *Navicula pelliculosa*）、シアノバクテリア 1 種（*Pseudanabaena galeata*）を河川付着藻類の代表として選定した¹⁵⁾。試験生物種の選定に加えて、この付着藻類 5 種を効率よく同時に試験するための簡便な試験方法も開発した。これは、培養チャンバーとして通常使用される三角フラスコの代わりに 96 穴マイクロプレートを使用し、各ウェルの底面に藻類を付着させて培養を行い、蛍光マイクロプレートリーダーを用いて藻類バイオマスの測定を底面に付着させたままで行う方法である¹⁵⁾。この試験方法の詳細なマニュアルが農業環境技術研究所より公表され

ている²⁰⁾。この5種同時毒性試験を行うことで、効率よくSSD解析のためのデータを得ることが可能である。新たに開発した試験法を用いて、除草剤20種の毒性試験を行ったところ、藻類の中でどの種に毒性が高いかは作用機作特異的である、という結果が得られた²¹⁾。

以上のように、SSD解析のためのデータ整備の体制を整え、結果として現在までに68種類の代表的な水稲用農薬のSSDを構築しており、生態リスクを迅速に評価できる状況にある²²⁾。この68農薬で水稲用農薬の出荷量の大部分をカバーできているが、それでも全登録農薬数に比べるとわずかな数である。そこで、SSD解析に必要な数のデータが無い場合においても、単一種の毒性データからSSDを推定する手法も併せて開発した²³⁾。

5. SSD マニュアル

SSD解析の手法は、日本国内では研究者の間でもあまり知られておらず、これまで活用事例は限られていた。この理由として、解析手法を詳しく解説した日本語の文献がほとんどないことが考えられた。そこで、日本国内でのSSDを用いた生態リスク評価の活用に向けて、「【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」を公開した²⁴⁾。これは、これまで行ってきたSSDに関する技術的な検討結果を、手法の基本的な紹介や歴史的背景、海外での活用事例などと共にまとめたものであり、農業環境技術研究所のウェブサイト (<http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/ssd/>) から、マニュアルと解析ツール (MS-Excel 用ファイル) をダウンロードできる。特徴としては、統計の専門知識がなくても簡単にSSDの解析や生態リスク評価ができるツールも併せて公開した点にある。このツールを用いると、環境中農薬濃度の推定値やモニタリング結果を入力するだけで生態リスク評価が可能となった (図6)、手持ちの毒性データを入力して、SSD解析を行ったりすることが可能である。さらに、曝露の分布に関する情報を入力して、EPAF (図5) の計算を行うことも可能である。

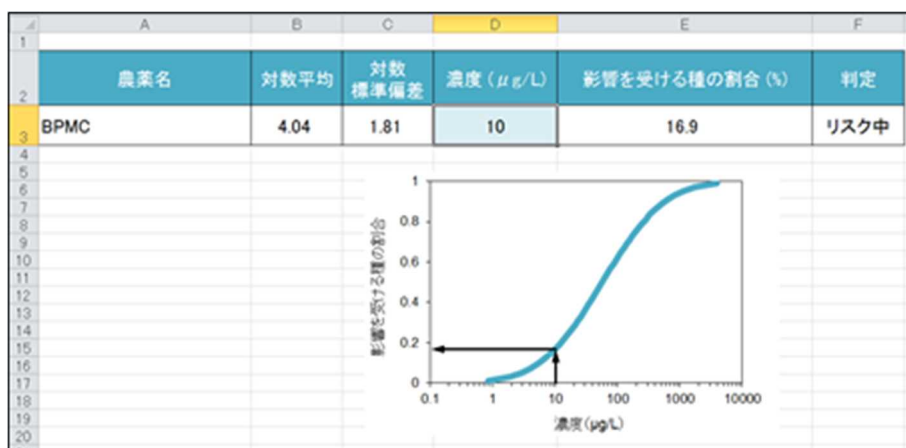


図6. 68農薬の種の感受性分布のパラメータが予め入力されており、農薬名を選択して河川水中農薬濃度 (μg/L) を入力するだけで「影響を受ける種の割合」が計算される。また、参考としてそのリスクの大きさの判定結果も併せて示される。

6. 曝露評価のためのデータベース構築

生態リスク評価における曝露評価では、環境中濃度を予測することがゴールである。水産登録保留基準における環境中予測濃度の算定では、架空の流域において農薬を使用した場合の流出量を計算し、河川流量から濃度を計算する。この架空の流域における水田面積や、農薬の普及率、河川流量などは予めシナリオが決まっており、水質汚濁性試験による田面水中農薬動態データ、農薬の土壌吸着性や分解性などの物理化学性データを入力すれば農薬毎の環境中濃度が計算される。このうち、農薬の環境動態に大きく影響する水溶解度や土壌吸着性、環境中分解性などの、物理化学性についてのデータベースを構築した。また、水田における農薬の消長を表す農薬環境動態データベースについても構築した。有効成分が同じ農薬でも、製剤や散布方法（本田散布、育苗箱施用、無人ヘリ散布）によって散布後の環境動態は変化する。このため、それぞれの用途毎にデータを整備する必要があった。実際の試験データが得られない場合には、水田環境における農薬の挙動予測モデルを用いて推定を行うなど、データギャップを埋める体制を整えた。農薬の普及率については、農薬毎、地域毎、用途毎、年ごとに異なっているため、この実態をデータベースとしてまとめている。農薬の用途毎の使用量は統計データが無い場合、都道府県別の農薬出荷量をベースとして、農薬適用一覧などから用途毎の使用量を推定する手法を開発した²⁵⁾。また、流域における土地利用や河川流量も環境中濃度に大きく影響する。具体的には水田面積率が大きく、河川流量が少ない流域が環境中濃度の高くなりやすい地点となる。そこで、流量年表に記載されている350地点の河川平水流量をデータベース化し、さらに、その流量観測地点から上流域における水田面積率を、GIS上で国土数値情報を解析することで計算した²⁶⁾。整備したデータベースを利用して、全国350地点の流量観測地点における環境中濃度を予測して、全国的な空間的変動を示すことができた²⁷⁾。最終的に、種の感受性分布と環境中予測濃度の空間的変動を統合することで生態リスクを定量化することが可能となる。さらに、複合毒性を予測する既存のモデルをSSDに適用することにより²⁸⁾、複数農薬の生態リスクを統合した累積リスクの全国分布を評価する手法も開発した。

7. おわりに

以上に述べてきたように、SSDは生態リスク評価において非常にパワフルなツールである。様々な注意点があるものの、それでもより適切なリスク管理を可能とする非常に有益な情報を与えてくれるだろう。今後の展望としては、対象とする生物種の拡大や野外生態調査によるリスク評価の検証が挙げられる。これまでSSD解析の対象となってきた生物種は魚類、節足動物、藻類に偏っている。感受性の種間差をより適切に表現するためには、水生菌類や水草等の維管束植物、土壌動物など、これまでデータの蓄積の無い生物種への拡大が望まれる。また、例えば「10%の種に影響が出る」という計算がなされた場合に実際の生態系に何が起こるのか？といった生態学的な意味付けについては現時点では不明確である。このようなリスク評価と実際の生態系の応答との関係を築くことは今後の重要な課題となるであろう²⁹⁾。

参考文献

1) 環境省：“水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準として環境大臣の定める基準の設定に関

する資料”

- 2) T. Nagai and A. Yokoyama: *J. Pestic. Sci.* **37**, 233–239 (2012).
- 3) L. Posthuma, G. W. Suter and T. P. Traas (eds.): “Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology (Environmental and Ecological Risk Assessment)”, Lewis Publisher, Boca Raton, USA, 2001.
- 4) U.S. EPA: “Guidelines for deriving numerical national water quality criteria for the protection of aquatic organisms and their uses”, U. S. Environmental Protection Agency, 1985.
- 5) EC: “Technical guidance for deriving Environmental Quality Standards”, European Commission, 2011.
- 6) ANZECC: “Australian and New Zealand guidelines for fresh and marine water quality”, Australian and New Zealand Environment and Conservation Council, 2000.
- 7) L. Maltby, N. Blake, T. C. M. Brock and P. J. van den Brink: *Environ. Toxicol. Chem.* **24**, 379–388 (2005).
- 8) P. J. van den Brink, N. Blake, T. C. M. Brock and L. Maltby: *Hum. Ecol. Risk Assess.* **12**, 645–674 (2006).
- 9) L. Maltby, T. C. M. Brock and P. J. van den Brink: *Environ. Sci. Technol.* **43**, 7556–7563 (2009).
- 10) R. P. A. vanWijngaarden, L. Maltby and T. C. M. Brock: *Pest. Manag. Sci.* **71**, 1059–1067 (2015).
- 11) European Food Safety Authority: “Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters”, *EFSA Journal*, 2013:11, 3290, 2013.
- 12) 永井孝志, 稲生圭哉, 堀尾剛: 農薬誌 **33**, 393–402 (2008).
- 13) 永井孝志, 稲生圭哉, 横山淳史, 岩船敬, 堀尾剛: 日本リスク研究学会誌 **20**, 279–291 (2010).
- 14) P. L. TenBrook, R. S. Tjeerdema, P. Hann and J. Karkoski: *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **199**, 19–109 (2009).
- 15) T. Nagai, K. Taya, H. Annoh and S. Ishihara: *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **94**, 37–44 (2013).
- 16) 永井孝志: インベントリー **11**, 58–69 (2013).
- 17) D. A. Hobbs, M. S. J. Warne and S. J. Markich: *Integr. Environ. Assess. Manag.* **1**, 174–180 (2005).
- 18) 農林水産省: 農薬の登録申請に係る試験成績について (平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知) . 2000.
- 19) 農業環境技術研究所: コガタシマトビケラ1齢幼虫を用いた農薬の急性毒性試験法マニュアル. 2008.
- 20) 農業環境技術研究所: 河川付着藻類を用いた農薬の毒性試験マニュアル. 2014.
- 21) T. Nagai, K. Taya, and I. Yoda: *Environ. Toxicol. Chem.* **35**, 368–375 (2016).
- 22) T. Nagai: *J. Pestic. Sci.* **41**, 6–14 (2016).
- 23) T. Nagai and K. Taya: *Environ. Toxicol. Chem.* **34**, 677–684 (2015).
- 24) 農業環境技術研究所: 【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. 2016.
- 25) 谷地俊二, 永井孝志, 稲生圭哉: 農薬誌, **41**, 1–10 (2016).
- 26) 岩崎亘典, 稲生圭哉, 永井孝志: GIS-理論と応用 **24**, 31–38 (2016).
- 27) 谷地俊二, 永井孝志, 稲生圭哉: 農薬誌, **42**, 1–9 (2017).
- 28) T. Nagai: *Environ. Toxicol. Chem.* **36**, in press (2017).
- 29) 永井孝志: 農薬誌 **42**, 133–137 (2017).