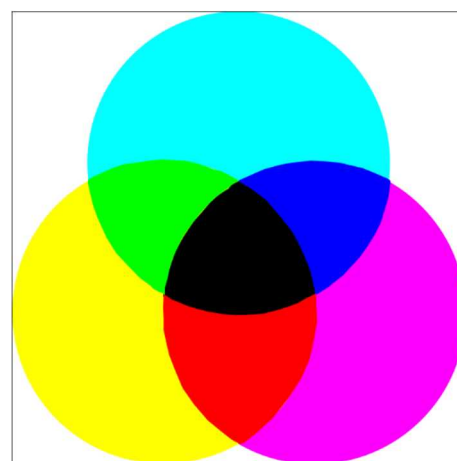
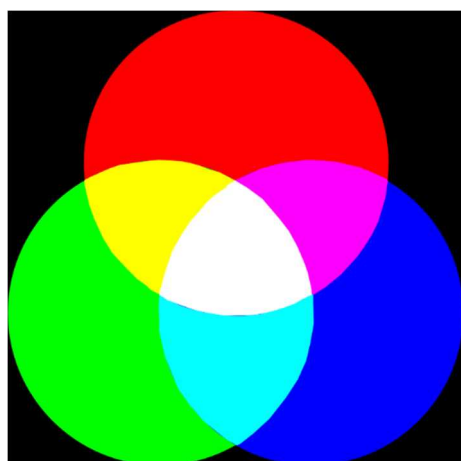


# 複数農薬の累積的生態リスク評価ツール NIAES-CERAP

Cumulative Ecological Risk Assessment of Pesticides



Ver. 1.0

2018年3月

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

現在わが国では、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」（以降、水産登録保留基準）の制度により、農薬の水産動植物に対するリスク評価に基づいた個別農薬の基準値の設定が順次進められている。一方で、実際の水環境では多種類の農薬が低濃度で存在している。例えば、茨城県桜川の農薬モニタリング調査によると、田植え後の水稲用農薬の使用ピーク時に最大で30種類以上の農薬の有効成分と同じ物質が同時に検出されている（Iwafune et al. 2010）。一つ一つの物質が安全と評価されていても、このような複数物質の mixture を考慮するとどうなるか、という懸念はぬぐえていない。諸外国では mixture を考慮した生態リスク評価に関する研究は大きなホットトピックとなっているが、日本ではあまり研究例が無いのが現状である。

これまでに、種の感受性分布の概念を用いて農薬の生態リスクを定量的に評価する手法を開発し、簡便な評価ツールを公開してきた。しかしこれは個別農薬のリスク評価にしか対応していなかった。そこで、既存の複合影響予測モデルを組み合わせ、多数の農薬の複合影響を計算できるように新たなリスク評価ツールを開発したものが「複数農薬の累積的生態リスク評価ツール: NIAES-CERAP (Institute for Agro-Environmental Sciences, NARO — Cumulative Ecological Risk Assessment of Pesticides)」である。本ツールの活用によって、行政や地方自治体、民間企業などによる農薬の生態リスク管理がより高度化されることが期待される。

## 2. 種の感受性分布 (SSD) と生態リスク評価

### ◆ SSD とは

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。しかしながら、環境中に生息する全ての幅広い生物種に対する毒性試験を行って、毒性データを得ることは現実的には不可能である。一方で経験則により、多数の生物種の感受性は対数正規分布に適合することが知られており、図 1 のように累積確率分布で表現できる。このように種間の感受性差を統計学的に表現したものが「種の感受性分布 (Species Sensitivity Distribution, SSD)」である。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。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。

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」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,  $HC_5$ ) を推定してリスク管理の目標値とする活用法がある。「影響を受ける種の割合 (Potentially Affected Fraction, PAF)」は生物多様性 (種の多様性) に対する影響度指標と見なすことができ、定量的なリスク評価に活用できる。ここでは室内急性毒性試験によって求められた半数致死濃度 (50% Lethal Concentration,  $LC_{50}$ ) もしくは半数影響濃度 (50% Effect Concentration,  $EC_{50}$ ) 値を超えた曝露を受けた場合に「その種は農薬による影響を受けた」と定義する。

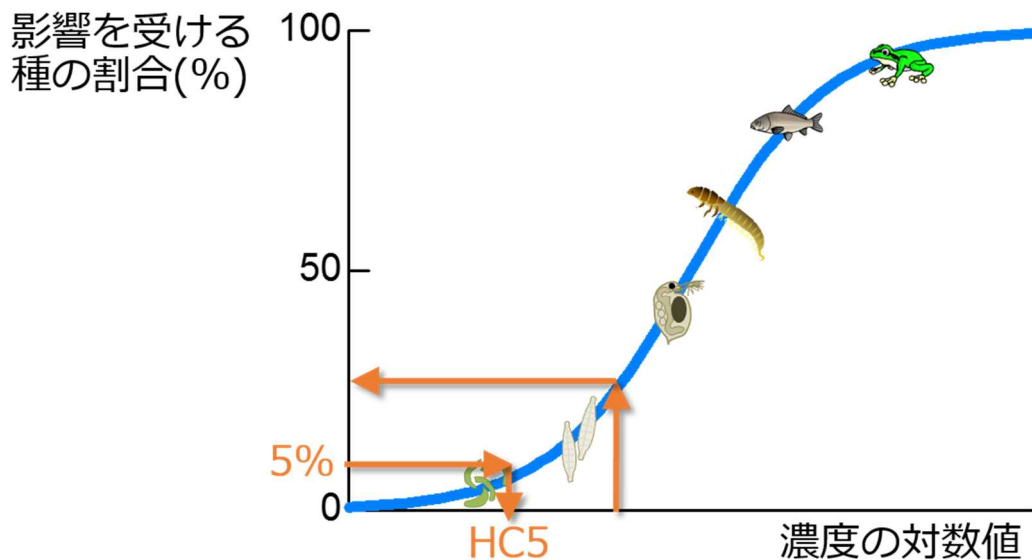


図 1. 種の感受性分布の概念図。6 種の生物を農薬によって影響を受けやすい順番に並べ、それぞれの種の毒性値に従って対数正規分布曲線に適合させた例を示す (注: この図はあくまで概念的な説明であり、生物種に対する感受性の順序は農薬の作用機作などにより大きく変化する)。

#### ◆ SSD マニュアルと生態リスク評価ツールの公開

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」を作成した (以下、SSD マニュアル)。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、農研機構 農業環境変動研究センターのウェブサイト (<http://www.naro.affrc.go.jp/archive/niaes/techdoc/ssd/>) から、マニュアル本文と解析ツール (Microsoft 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り (図 2)、手持ちの毒性データを入力して、SSD 解析を行なったりすることが可能である。

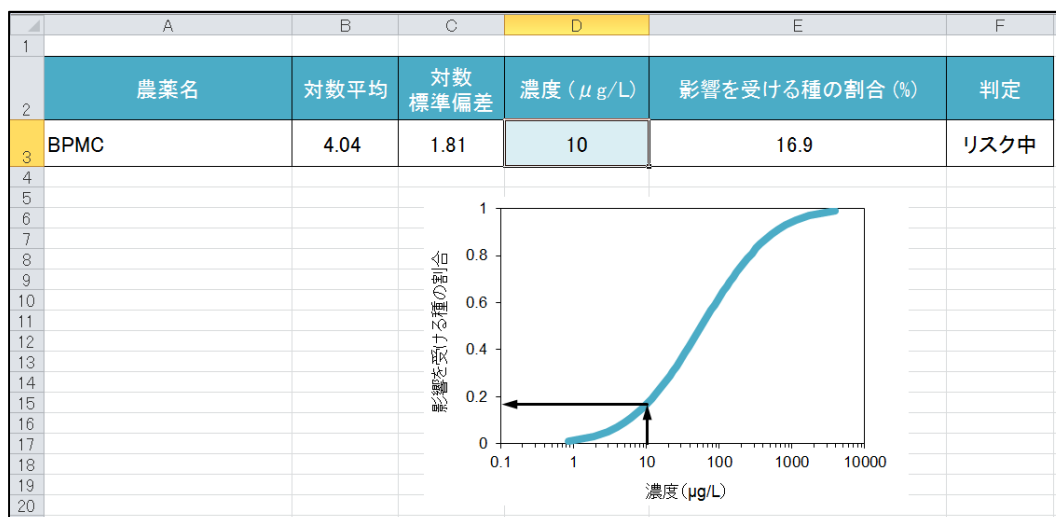


図 2. Microsoft Excel を用いた「影響を受ける種の割合」の計算

### 3. 複数農薬の複合影響を考慮した累積リスク評価

#### ◆ 複合影響計算モデル

SSD を用いて複数の農薬による複合影響を計算することも可能である。単独の生物種を対象とした複合影響評価の手法は従来から発達してきている。複合影響を予測するモデルとして主なものに Concentration Additive モデル (CA モデル) と、Independent Action モデル (IA モデル) がある。CA モデルは毒性で重み付けした濃度をそれぞれ加算していく方法であり、例えばダイオキシン類の毒性等量 (Toxic Equivalent, TEQ) を計算する方法と同様である。このモデルは作用機作 (Mode of Action, MoA) が同様の物質間で用いられる。IA モデルは、毒性の発現が完全に独立に起こるという仮定の下で、確率を乗算していく方法であり、作用機作が異なる物質間で用いられる。両者ともに、それぞれの物質の濃度反応関係から累積影響率を計算することが可能である (図 3 上段)。これらのモデルについては多くの実験的な検証が行われている。

これらのモデルは SSD (多種系) の場合においても同様に適用することができる (de Zwart and Posthuma 2005)。それぞれの物質の SSD を濃度反応関係と見なし、CA モデルや IA モデルを適用することで、複数物質によって影響を受ける種の割合 (multi substance potentially affected fraction, msPAF) を計算することができる (図 3 下段)。これを複数物質による累積リスクとみなす。これまでに、オランダの農業用水路で 261 農薬の累積リスクを評価し、水路の生物調査のデータと比較した研究例が報告されている (de Zwart 2005)。この結果では、msPAF が 10% 以上の地点で生物の種組成が変化した。

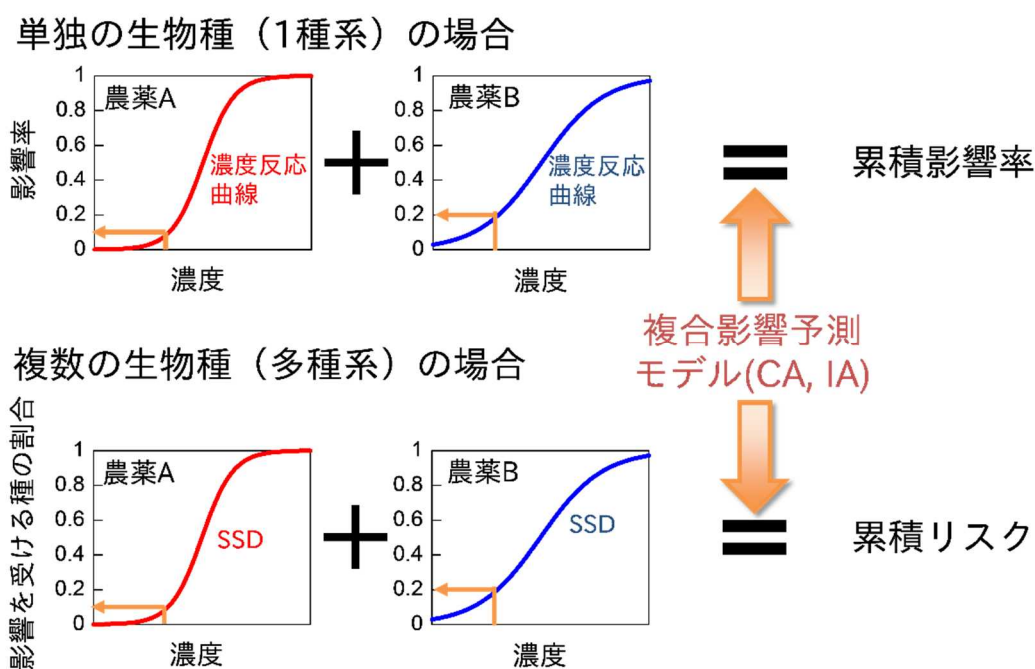


図 3. 複合影響評価の概念

◆ 計算方法

CA モデル、IA モデル、CA-IA 混合モデルの計算方法を解説する。

CA モデルでは毒性で重み付けした濃度（Toxic Unit, TU）の計算が中心となる：

$$TU = \text{濃度}/HC50$$

ここで HC50 値は、対数正規分布を仮定した SSD のパラメータである対数平均値の指数をとって幾何平均値に変換したものとイコールである（詳細は SSD マニュアル 3.1 節参照）。農薬 A と農薬 B の累積リスクの計算は：

$$TU_{\text{mixture}} = TU_A + TU_B = [\text{農薬 A}]/HC50_A + [\text{農薬 B}]/HC50_B$$

となり、これを対数正規分布の関数

$$N[0, \ln SD_{\text{average}}]$$

に、濃度として  $\log(TU_{\text{mixture}})$  をあてはめて累積確率を計算し、これを msPAF とする。ここで  $\ln SD_{\text{average}}$  は、農薬 A と農薬 B の対数標準偏差（SSD パラメータの一つ）の平均値とする。CA モデルでは本来、濃度反応関係の傾き（ここでは SSD の対数標準偏差の意味）が等しいということが前提となっている。しかしながら、実際には傾きが若干異なるため平均値をとって調整する。傾きが大きく異なる場合には作用機作が異なることが示唆されるため、CA モデルではなく IA モデルの適用が望ましいとされている（de Zwart and Posthuma 2005）が、作用機作が分かっている農薬の場合は CA モデルをそのまま当てはめても良い。

IA モデルでは、影響は完全に独立に起こると仮定して確率をかけ算する（相乗効果とは異なる）。農薬 A と農薬 B の累積リスクは、まずそれぞれ独立に SSD から影響を受ける割合（ $PAF_A$ 、 $PAF_B$ ）の計算を行い、最後に以下の式で計算する：

$$msPAF = 1 - \prod(1 - PAF) = 1 - [1 - PAF_A] \times [1 - PAF_B]$$

多種類の農薬が混合している系で、同じ作用機作同士のものとは異なる作用機作のものが混在している場合には、CA-IA 混合モデルを用いる。図 4 は 6 つの農薬の混合下を想定し、農薬 a, b, c が作用機作 1、農薬 d, e が作用機作 2、農薬 f が作用機作 3 の場合の累積リスクの計算の概念図である。まず、作用機作 1 の農薬 a, b, c の累積リスク（ $PAF_{MoA1}$ ）を、それぞれの SSD から CA モデルで計算する。次に、作用機作 2 の農薬 d, e の  $PAF_{MoA2}$  を、それぞれの SSD から CA モデルで計算する。最後に、 $PAF_{MoA1}$ 、 $PAF_{MoA2}$  と農薬 f の単独の影響率  $PAF_{MoA3}$  から、IA モデルによって msPAF を計算する。このように、混合物質数がいくつであっても同様の方法で計算することが可能である。農薬の作用機作については、殺虫剤は IRAC、殺菌剤は FRAC、除草剤は HRAC が整理している情報を活用できる。

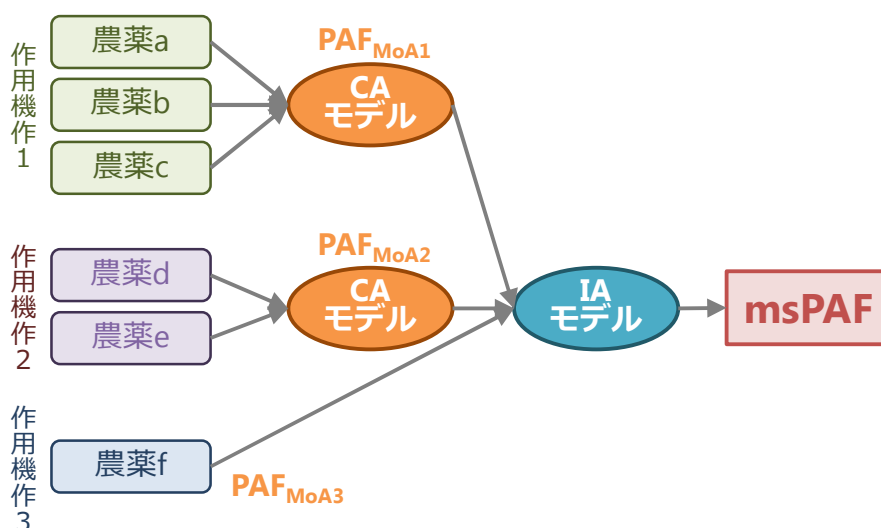


図 4. CA-IA 混合モデルによる累積リスクの計算

#### 4. Microsoft Excel をベースとした累積リスク評価ツール NIAES-CERAP

上記の計算を簡便に行うために、Microsoft Excel をベースとした累積リスク評価ツールである NIAES-CERAP を開発した（図 5）。このシートでは、手持ちの環境中濃度を G 列のセルにそれぞれ入力すると、累積リスク指標の msPAF が C2 のセルに表示され、その判定が表示される。全 68 農薬の SSD のパラメータ（Nagai 2016）がすでに入力されているため、必要な情報は濃度のみである。今後、解析可能な農薬数は増やす予定である。濃度の



データが無い、もしくは評価対象としない農薬の濃度は空欄のままにすると、その農薬の寄与は無視される。殺虫剤・殺菌剤・除草剤は別々の計算シートとなっている。これは、感受性の違いから SSD の対象となる生物種がそれぞれ異なるためである。すなわち、殺虫剤は節足動物、殺菌剤は全水生生物、除草剤は一次生産者に対して影響を受ける割合を計算している。ただし、これらを全て統合したい場合は、殺虫剤・殺菌剤・除草剤でそれぞれ計算した msPAF を平均して Overall PAF を計算できる (SSD マニュアル 4.4 節参照)。

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1		影響を受ける種の割合 (%)	判定	計算結果が出力			環境中濃度を入力			
2	除草剤	10.1	リスク中							
3										
4	分類	農薬名	作用機作	対数平均	対数標準偏差	対数標準偏差の作用機作平均	濃度 (µg/L)	TU	SumTU	PAF_McA
5	除草剤	ベンスルフロンメチル	B	5.27	3.84	3.430	0.034	0.000	0.001	0.024
6		イマゾスルフロン	B	6.70	3.16		0.181	0.000		
7		ピラゾスルフロンエチル	B	4.44	3.48		0.040	0.000		
8		シクロスルフアムロン	B	5.91	4.36		0.010	0.000		
9		プロピリスルフロン	B	7.29	2.79		0.056	0.000		
10		ピリミスルフアン	B	6.07	2.95		0.075	0.000		
11		ピリミノバックメチル	B	10.96	0.25		0.052	0.000		
12		シメリン	C1	3.53	0.85	0.797	0.312	0.009	0.010	0.000
13		ベンダゾン	C3	9.66	0.75		13.091	0.001		
14		キノクラミン	D	3.79	0.76	0.762	0.513	0.012	0.012	0.000
15		オキサジアゾン	E	4.20	2.85	3.135	0.245	0.004	0.006	0.053
16		ベントキサゾン	E	2.69	3.28		0.021	0.001		
17		オキサジアルギル	E	3.29	3.24		0.005	0.000		
18		ピラクロニル	E	4.88	3.32		0.081	0.001		
19		カルフェントラゾンエチル	E	4.52	2.98		0.037	0.000		
20		ピラゾレート	F2	4.78	2.68	1.847	0.000	0.000	0.000	0.000
21		ベンゾフェナップ	F2	5.15	1.45		0.008	0.000		
22		デフリルトリオン	F2	10.40	1.45		0.182	0.000		
23		ピラゾキシフェン	F2	7.30	1.81		0.160	0.000		
24		プレチクロール	K3	6.35	3.30	2.992	1.121	0.002	0.003	0.027
25		メフェナセット	K3	7.47	1.95		1.211	0.001		
26		カフェンストロール	K3	6.68	2.88		0.043	0.000		
27		ブタクロール	K3	6.25	3.17		0.160	0.000		
28		フェントラザミド	K3	7.25	3.27		0.046	0.000		
29		インドノファン	K3	6.23	3.37		0.059	0.000		
30		ベンチオカーブ	N	6.64	2.25	1.478	0.580	0.001	0.001	0.000
31		エスプロカルブ	N	7.49	1.34		0.226	0.000		
32		モリネート	N	8.42	1.31		1.101	0.000		
33		ベンプレセート	N	10.28	1.01		0.395	0.000		
34		クロメプロップ	O	5.42	1.31	1.310	0.001	0.000	0.000	0.000
35		プロモブチド	Z	9.72	0.72	0.717	2.704	0.000	0.000	0.000
36		ダイムロン	Z	8.45	0.94	0.940	0.874	0.000	0.000	0.000
37		クミルロン	Z	8.72	1.16	1.157	1.614	0.000	0.000	0.000

図 5. NIAES-CERAP を用いた累積リスクの計算

使い方として、時系列のデータを解析する場合とピーク濃度を用いて解析する場合が想定される。時系列のデータを解析する場合には各時点での累積リスクとその経時変化を示すことが可能となる。また、時系列で得られた各農薬のピーク濃度を用いて解析すれば、その場における代表的なリスクの値を算出できる。

すでに公開されている SSD マニュアルの付録の生態リスク評価ツールでは、単独の農薬による「影響を受ける種の割合」を計算できるが、本ツールで単独の農薬の濃度のみを入

力した場合に得られる「影響を受ける種の割合」とは若干の違いがある。これは、本ツールが同じ作用機作の農薬の対数標準偏差を平均して計算に用いているためである。作用機作が同じであれば SSD の傾き（対数標準偏差）は同じである、という仮定に基づけば、むしろ本ツールによって計算される値の方が、同じ作用機作の複数の農薬の毒性データを活用している分妥当性が高いと考えられる。

NIAES-CERAP では、計算結果として msPAF とその判定が示されている（図 5）。判定は暫定的に以下の 4 段階で示している：50%>→リスク高；5~50%→リスク中；0.1~5%→リスク低；<0.1%→不検出（Not Detected, ND）。0.1%以下の領域は確率論的に定量化することは困難であり、これを不検出とする。0.1%以上は確率論的には検出されたと考えるが、HC5 以下は野外で影響を検出することが困難なほど低い影響であることから、リスク低とみなす。また、人工的な隔離水界を用いた生物群集に対する試験（メソコスム試験）の結果から、半分程度の種が一時的に影響を受けても生態系はその後回復する能力を持っていることを考慮し、50%を境にリスク中とリスク高を分けて考えることができるとみなす（詳細は SSD マニュアル 3.5 節参照）。このように、メソコスム試験の結果との比較によりある程度の根拠を持った判定ではあるが、さらに今後の検討が必要な部分である。影響を受ける種の割合の数字はあくまでリスク同士の比較目的に使用するものであり、その絶対値への意味づけは特に慎重になるべきである。すなわちここで示す判定はあくまで一例であり、リスク評価の目的やシナリオ、リスク管理目標などによって変更されるべきものである。

## 5. SSD を用いた累積リスク評価の実験的検証

### ◆ ファンネル仮説（Funnel Hypothesis）

複合影響といえば、加算的以上の影響をもたらす相乗効果、もしくは互いに毒性を打ち消し合って加算的以下の影響になってしまう拮抗効果が想定される。CA モデルや IA モデルは、基本的に「複合影響は加算的である」という仮定をとっている。この仮定の下での複合影響の予測は妥当なのだろうか。当然、実際の化学物質の複合影響では相乗や拮抗効果が起こりうるが、ここではファンネル仮説という考え方を紹介する。ファンネル仮説とは、Warne and Hawker (1995) によって提唱された、複合影響に関する概念である（図 6）。混合の物質数が少ない場合、加算的モデルによる予測からの解離が大きい（相乗もしくは拮抗）ケースが多数出てくる（図 6 の左側）が、混合物質数が増えるにつれて、個々の組み合わせでは相乗や拮抗効果が起こるが、その組み合わせが多いためにそれらが互いに相殺されて、見かけ上加算的に近づいていく（図 6 右側）。この図 6 のグラフが漏斗状に見えるためファンネル仮説と名付けられた。

毒性学的に興味を持たれるのは、高濃度 2 種類の混合系で相乗あるいは拮抗効果を見いだし、そのメカニズムを探る研究である。しかしながら生態リスク評価で重要となるのは、むしろ実際の野外環境で見られる低濃度多種類混合下での累積影響である。このような場



合、相乗や拮抗効果を重要視するよりも、ファンネル仮説の下で CA モデルや IA モデルで計算する方が効率的かつ実用的である。

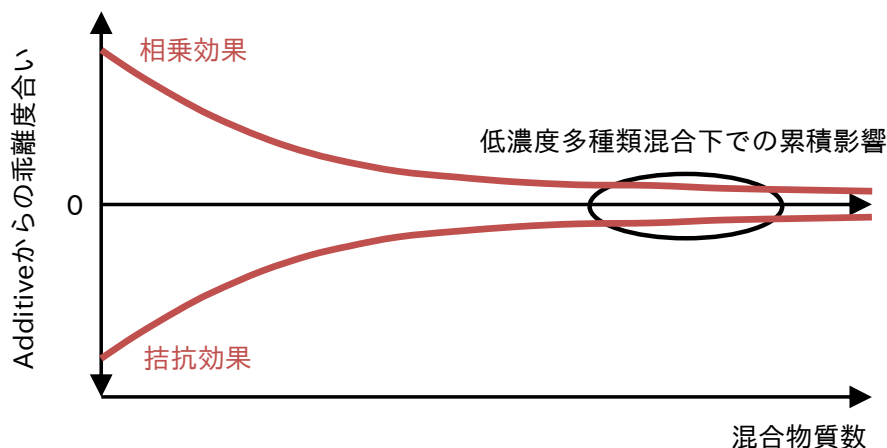


図 6. ファンネル仮説の概念図

#### ◆ 累積リスク評価の実験的検証

生物 1 種系の場合においては、ファンネル仮説を支持する実験結果はこれまで多数得られている。ただし、SSD を用いた多種系においてはそのような研究例はこれまで報告されてこなかった。そこで、複合影響予測モデルを SSD に適用することが妥当かどうかを実験的に示すために、5 種の藻類を用いて、5 種類の除草剤を混合させた毒性試験を行った (Nagai 2017)。

除草剤の組み合わせとして、作用機作が同じ除草剤を 5 種類 (プレチラクロール、ブタクロール、メフェナセット、カフェンストロール、フェントラザミド) 混合した場合 (複合 1) と、作用機作が異なる除草剤を 5 種類 (プレチラクロール、ベンスルフロンメチル、ピラクロニル、エスプロカルブ、シメトリン) 混合した場合 (複合 2) の実験を設定した。また、5 種類の除草剤の毒性寄与率が同じになるように、それぞれの除草剤の 5 種類の藻類に対する単独の毒性試験結果から解析した SSD の 5, 10, 20 パーセントの濃度 (HC5, HC10, HC20) で混合する 3 つの実験区を設定した。藻類を用いた毒性試験は農研機構 農業環境変動研究センターによって公開されている「河川付着藻類を用いた農薬の毒性試験マニュアル」 (<http://www.naro.affrc.go.jp/archive/niaes/techdoc/algae/>) に基づいて行った。増殖速度がコントロール区に対して 50%以下まで阻害を受けた場合にその種は影響を受けたと判定し、5 種類の藻類のうち例えば 1 種のみが影響を受けた場合に  $1/5=20\%$  の種が影響を受けた、と計算した (図 7 の棒グラフ)。

この実験結果と、5 種類の除草剤の個別の曝露濃度から CA・IA モデルで予測した msPAF を比較した。結果、作用機作が同じ場合には CA モデルによる予測精度が良好であり (図 7 左)、作用機作が異なる場合には IA モデルによる予測精度が良好であった (図 7 右)。こ

のように、SSD を用いた msPAF の計算においても、CA と IA モデルが適用可能であることを検証することができた。これは、本ツールによる累積リスクの計算の妥当性を示すものである。

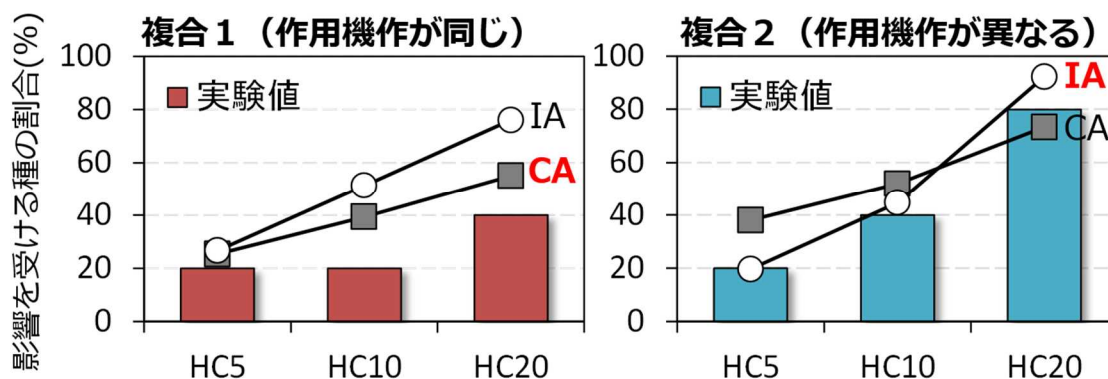


図 7. 複合毒性試験結果とモデル予測の比較

## 6. 本ツールを用いたリスク評価結果をより良く解釈するために

リスクの定量的な評価は、便利であると共に様々な誤解も生みやすい。いわゆる数字が一人歩きする、という懸念である。SSD を用いたリスク評価結果を用いて適切な管理対策を考え、適切にコミュニケーションをとるためには、その意味を正しく理解する必要がある。このために SSD マニュアル 4.6 節を熟読することを推奨する。

「影響を受ける種の割合」という生態リスク指標の現時点での最適な利用方法は、あくまでも効率的なリスク管理対策を考える上で有用であるもので、値が幾つ以下であれば安全、幾つ以上なら危険、などの判断に用いるものではない。また、ある特定の農薬のリスクのみを評価して、何かの判断をすることは誤った判断につながる。ある特定の農薬の使用を低減しても、他の農薬に切り替えが起こった場合に、リスクが下がるのかどうかは明らかではなく、むしろ増えてしまう場合もある。リスクの定量的な評価とは、どんな管理をすればどのようなことが起こるのか、ということを考えるための手段である。本ツールがより良いリスク管理を支援することが期待される。

また、例えば「msPAF が 10%であった」という計算がなされた場合に実際の野外で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。この課題についての近年の動向については、すでに別のレビュー(永井 2017)でも論じているので、そちらを参照いただきたい。

## 7. 参考文献

- de Zwart, Posthuma L (2005) Complex mixture toxicity for single species and multiple species: proposed methodologies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 2665–2676.
- de Zwart (2005) Ecological effects of pesticide use in the Netherlands: modeled and observed effects in the field ditch. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 1, 123–134.
- Insecticide Resistance Action Committee (IRAC),  
<http://www.iraac-online.org/modes-of-action/>
- Fungicide Resistance Action Committee (FRAC),  
<http://www.frac.info/publications/downloads>
- Herbicide Resistance Action Committee (HRAC),  
<http://hracglobal.com/tools/classification-lookup>
- Iwafune T, Inao K, Horio T, Iwasaki N, Yokoyama A, Nagai T (2010) Behaviour of paddy pesticides and major metabolites in the Sakura River, Ibaraki, Japan. *Journal of Pesticide Science*, 35, 114–123.
- Nagai T (2016) Ecological effect assessment of 68 pesticides used in Japanese paddy field using species sensitivity distribution. *Journal of Pesticide Science*, 41, 6-14.
- Nagai T (2017) Predicting herbicide mixture effects on multiple algal species using mixture toxicity models. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36, 2624–2630/
- 永井孝志 (2017) 室内試験から野外での影響までの共通解析基盤としての種の感受性分布. *日本農薬学会誌*, 42, 133–137.
- 国立研究開発法人農業環境技術研究所 化学物質環境動態影響評価リサーチプロジェクト (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. 1.0
- Warne MSJ, Hawker DW (1995) The number of components in a mixture determines whether synergistic and antagonistic or additive toxicity predominate: The funnel hypothesis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 31, 23–28.

本成果は、環境省環境研究総合推進費「適切なリスク管理対策の選択を可能にする農薬の定量的リスク評価法の開発（C-1102）」（平成23～25年度）と、環境省委託事業「農薬水域生態リスクの新たな評価手法開発事業」（平成23～27年度）の成果の一部を踏まえ、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 中課題41807「新たな農業生産方式導入による環境保全効果の評価指標開発」（平成28～29年度）においてとりまとめたものです。また、本ツール・技術マニュアルは環境省の見解ではないことを付します。

プロジェクトリーダー：神山和則（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）

研究担当：永井孝志・横山淳史・稲生圭哉（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 生物多様性研究領域）

ツール作成・技術マニュアル執筆：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 生物多様性研究領域）

複数農薬の累積的生態リスク評価ツール：NIAES-CERAP  
Ver. 1.0（2018年3月）

編集・発行：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

問い合わせ先：永井孝志

Tel: 029-838-8191（広報担当）

E-mail: nagait@affrc.go.jp