

3. SSD 解析

本章では、SSD の基幹である対数正規分布の解説から、具体的な解析方法、これまでに農業環境技術研究所で行ってきた SSD の解析結果の概説、予測無影響濃度とみなされる HC5 値と原稿の登録保留基準値やメソコス試験との比較、SSD を活用した生態リスク評価手法について解説する。

3.1. 確率分布と SSD

自然現象の中に現れるバラツキは釣鐘型(図 8A)をした正規分布に近似できるものが多い。1.3.節で記載したように、ある化学物質に対する種間の感受性(の対数値)も正規分布に近似できることが経験的に知られるようになった。このことから、種の感受性分布は対数正規分布で表されることが多い。正規分布と対数正規分布は、ともに二つのパラメータ(平均値と標準偏差もしくは対数平均値と対数標準偏差)で形が決まる。平均値 \pm 標準偏差の範囲に分布の 68.3%、平均値 $\pm 2 \times$ 標準偏差の範囲に分布の 95.4%が含まれている(図 8A)。各値の出現確率を表現したものを確率密度(図 8A)といい、それを累積した形で表現したものが累積確率(図 8B)である。一般的に種の感受性分布を図示する場合は累積確率で表すことが多い。

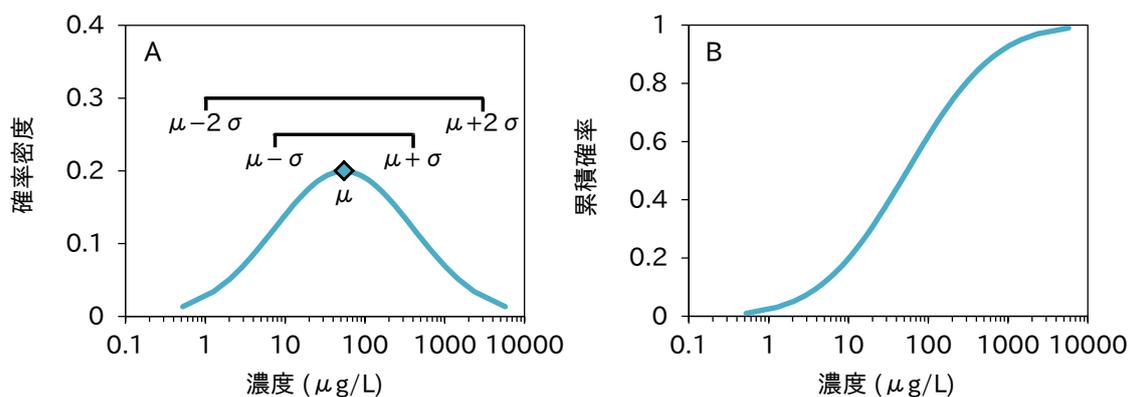


図 8. 対数正規分布(対数平均 $\mu=4$, 対数標準偏差 $\sigma=2$) の確率密度(A)と累積分布(B)

ここで、対数正規分布の二つのパラメータの意味を解説する。対数平均値 (ln Mean) は分布の相対的な位置を意味し、対数標準偏差 (ln SD) は分布の傾きを意味する。対数平均が高くなるにつれて相対的に高い値の方へ分布が移動する (図 9A)。また、対数標準偏差が高くなるにつれて、分布の傾きは緩やかになる (図 9B)。種の感受性分布においては、対数平均が高いほど相対的な毒性が低いことを意味し、対数標準偏差が高いほど種間の感受性差が大きく分布の裾野の影響が大きくなることを意味する。

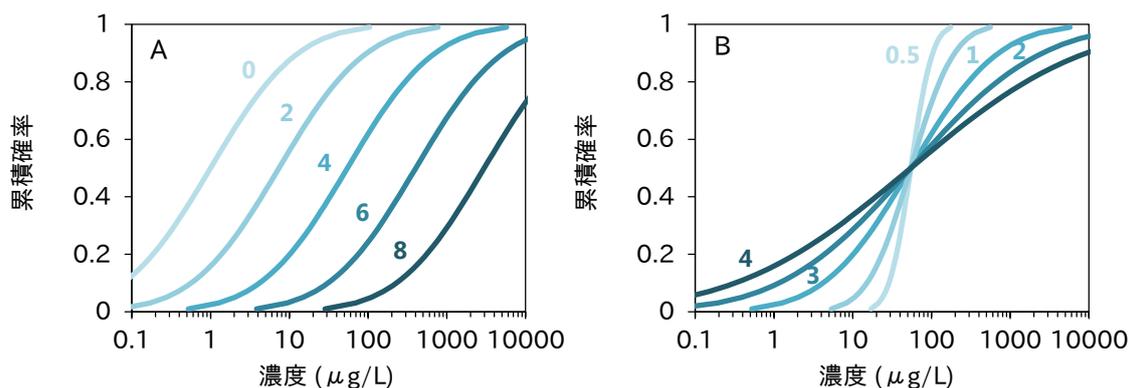


図 9. 対数正規分布の累積分布。(A) 対数標準偏差=2 に固定し、対数平均を 0, 2, 4, 6, 8 と変化させた場合の分布、(B) 対数平均=4 に固定し、対数標準偏差を 0.5, 1, 2, 3, 4 と変化させた場合の分布。

3.2. SSD の解析方法

◆ 概要

2章で収集した急性毒性試験の EC50、LC50 値を対数正規分布に適合させて、SSD の解析を行う。本 SSD 解析法は、欧米豪式のそれぞれ良い点を組み合わせたオリジナルの解析法である (Nagai and Yokoyama 2012)。SSD 解析にはデータの信頼性が 1 と 2 のデータのみを使用する。殺虫剤については甲殻類や昆虫類等の節足動物に対して特に毒性が高く、SSD は節足動物のグループとそれ以外の種のグループで明確に分離される (Maltby et al. 2005)。また、除草剤については藻類等の一次生産者に対して特に毒性が高く、SSD は一次生産者のグループとそれ以外の種のグループで明確に分離されることが知られている (van den Brink et al. 2006)。このため、上記のような分類群によるグループ分けを行い、それぞれのグループに対して SSD の解析を行う。SSD の解析を行うために必要な最小データ数についてはこれまでにいくつかのガイドライン等で提案がなされているが、ここでは OECD による生態影響評価のガイドライン (OECD 1995) に従い 5 つ以上とした。この妥当性については 4.1 節で改めて検討する。また、US EPA の水質基準導出のためのガイドライン (US EPA 1985) に従い、同属で複数種の毒性データが得られる場合には属レ

ベルを単位としてまとめる。この条件を満たす場合、毒性データは Naito et al. (2006) に従い属毎に全て区間データとしてまとめ、対数正規分布のパラメータ (ln Mean と ln SD) を最尤法にて推定する。同じ属で一つの毒性値しか得られない場合、例えばその数字が 10 であれば 9.5~10.5 という区間データとして扱う。同じ属内で複数の毒性値がある場合には最小値と最大値を用いて区間データとし、「>〇〇」などとなっている場合にはその最小値とその 10 倍の値を最大値として区間データとする。このような操作により、「>〇〇」というデータが多い少ないなどの、剤毎の毒性データの質の違いを補完することができる。

◆ 解析の理論

本解析法で採用した Aldenberg and Jaworska (2000)の方法に基づいて、SSD 解析の理論を解説する。多数の種の感受性が対数正規分布に近似できる場合、p%の種が影響を受ける濃度 HC_p は以下の式で表現される：

$$\ln \text{HC}_p = (\ln \text{Mean}) + K_p \cdot (\ln \text{SD})$$

K_p の値は正規分布表から求めることができ、例えば HC₅ を求める場合は $K_5 = -1.65$ となる。ただしこれはデータ数 (n 数) が無限大に大きい場合である。実際には $n > 5$ の限られたデータを用いて解析を行うため、その場合 K_p の値自体が分布 (非心 t 分布) として表現される。この値を ks と置くと、計算式は以下のように置き換わる：

$$\ln \text{HC}_p = (\ln \text{Mean}) + ks_p \cdot (\ln \text{SD})$$

例えば、 ks_5 値の 5, 50, 95 パーセンタイル値は、 $n = 5$ の場合にはそれぞれ -4.20、-1.78、-0.82 となり、 $n = 15$ の場合にはそれぞれ -2.57、-1.68、-1.11 となる。このように HC₅ も分布として計算されるため、中央値に加えて 5~95 パーセンタイル値の範囲を信頼区間として計算する。 n 数が増えるにつれてその信頼区間の幅は狭くなる。通常 HC₅ と言った場合は、HC₅ の 50 パーセンタイル値 (中央値) のことを指す。

◆ 解析例

毒性データを収集した実際の殺虫剤 A の節足動物以外の毒性値の例を表 2 に示す。この場合、10 属 10 種の合計 12 個の毒性値が得られている。*Pseudokirchneriella subcapitata* は >140 $\mu\text{g/L}$ と 19000 $\mu\text{g/L}$ の二つのデータがあるため、140~19000 という区間データとなり、*Scenedesmus subspicatus* の場合、68 $\mu\text{g/L}$ の 1 データがあるため、67.5~68.5 という区間データとなり、*Cyprinus carpio* は 430 $\mu\text{g/L}$ と 340 $\mu\text{g/L}$ の二つのデータがあるため、340~430 という区間データとなる。このように全ての属レベルで区間データとしてまとめ、その下限値と上限値の幾何平均値の順に並べると表 3 のようになる。このときの累積確率を (No. - 0.5)/属数 10 で計算し、幾何平均値を横軸に、累積確率を縦軸にプロットすると感受性分布をグラフとして表現できる (図 10)。

表 2. 殺虫剤 A の節足動物以外の毒性データの一覧

試験生物	分類群	EC50, LC50 ($\mu\text{g/L}$)
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	緑藻類	>140
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	緑藻類	19000
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	緑藻類	68
<i>Navicula pelliculosa</i>	珪藻類	>120
<i>Anabaena flos-aquae</i>	シアノバクテリア	>170
<i>Lemna gibba</i>	単子葉植物類	>160
<i>Corbicula fluminea</i>	二枚貝類	>2000
<i>Ictalurus punctatus</i>	魚類	560
<i>Lepomis macrochirus</i>	魚類	85.2
<i>Cyprinus carpio</i>	魚類	430
<i>Cyprinus carpio</i>	魚類	340
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	魚類	248

表 3. 殺虫剤 A の節足動物以外の毒性値の解析例

No.	属名	区間下限値	区間上限値	幾何平均値	累積確率
1	<i>Scenedesmus</i>	67.5	68.5	68	0.05
2	<i>Lepomis</i>	85.15	85.25	85	0.15
3	<i>Oncorhynchus</i>	247.5	248.5	248	0.25
4	<i>Navicula</i>	120	1200	379	0.35
5	<i>Cyprinus</i>	340	430	382	0.45
6	<i>Lemna</i>	160	1600	506	0.55
7	<i>Anabaena</i>	170	1700	538	0.65
8	<i>Ictalurus</i>	559.5	560.5	560	0.75
9	<i>Pseudokirchneriella</i>	140	19000	1631	0.85
10	<i>Corbicula</i>	2000	20000	6325	0.95

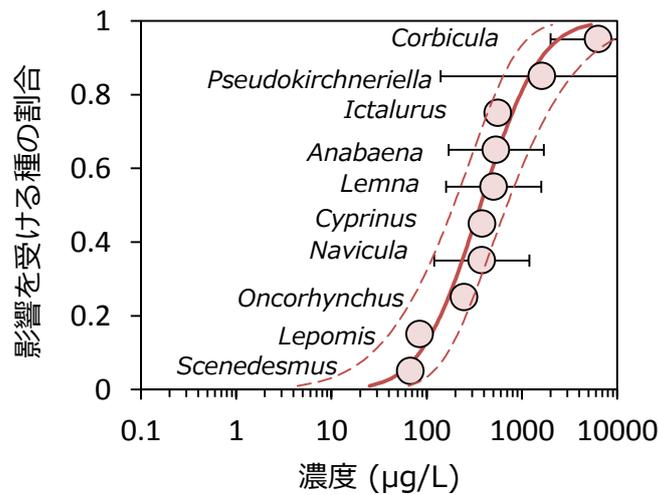


図 10. SSD のグラフ。実線は SSD の中央値、点線は 90%信頼区間、バーは区間下限値～上限値の範囲を示す。

Microsoft Excel を用いて計算する場合には、図 11 のようなシートを作成して値を入力する（詳細は 6.2.節付録を参照）。最尤法により、累積確率の差の対数値の積算値が最大となるような SSD パラメータ（対数平均、対数標準偏差）を、ソルバー機能を用いて求めることができる。信頼区間の幅はデータの属数（n 数）によって決まり、予め n 数毎にデータベース化した ks 値を用いて 90%信頼区間（5～95 パーセンタイル）を計算する。この例では、ln Mean = 5.9、ln SD = 1.1、HC5 = 55.4（90%信頼区間 14.5～118） $\mu\text{g/L}$ と計算された。

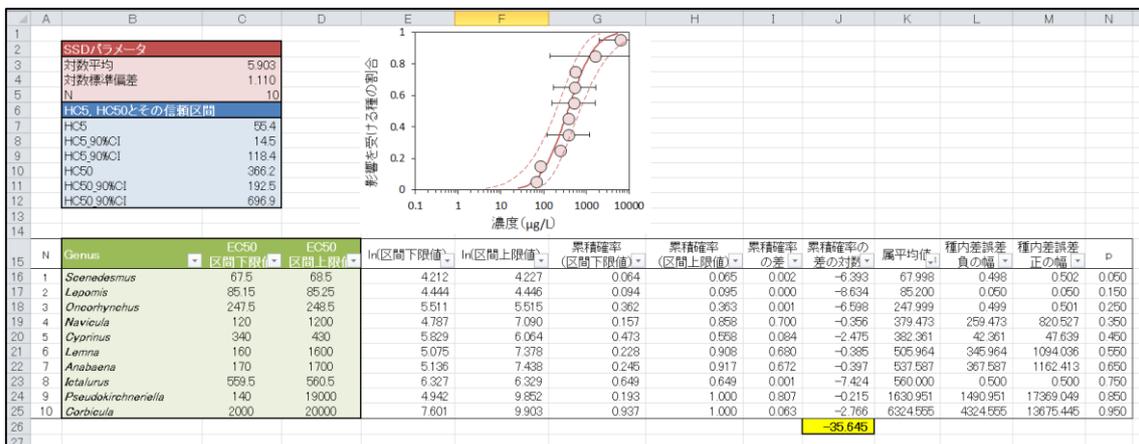


図 11. Microsoft Excel を用いた SSD の計算

◆ 他の SSD 解析用ソフトウェア、日本語の参考文献など

AIST-MeRAM は、国立研究開発法人産業技術総合研究所で開発された、産総研一汎用生態リスク評価管理ツールである。「生態リスク評価や統計処理などの特別な知識がなくても、PC画面上でのマウスクリックにより、初期的なリスク評価から、種の感受性分布や個体群影響による高度なリスク評価まで、様々なニーズに対応するリスク評価が可能になる」と説明されている（図 12）。SSD 解析においては、対数正規分布だけでなく各種分布の中から適合させる確率分布を選択することも可能である。以下の WEB サイトから、無料でダウンロード可能である：

<https://meram.aist-riss.jp/>

産総研一汎用生態リスク評価管理ツール AIST-MeRAM (著作権登録管理番号 H25PRO-1494) [English](#)

AIST-MeRAM 産総研一汎用生態リスク評価管理ツール

AIST-MeRAM (アイストミラム) は、誰でも簡単に使える、かつ、無料で入手できる、化学物質生態リスク評価管理のためのソフトウェアです。ご自身のPCにAIST-MeRAMをインストールすれば、生態リスク評価や統計処理などの特別な知識がなくても、PC画面上でのマウスクリックにより、初期的なリスク評価から、種の感受性分布や個体群影響による高度なリスク評価まで、様々なニーズに対応するリスク評価が可能になります。AIST-MeRAMには、主に以下の手法やデータを搭載しています。3900物質を超える化学物質の有害性データと暴露データのサンプルが内蔵されているため、手持ちのデータが無くともすぐに試用いただけます。

現在公開している日本語版はVer.1.0.1です。ご興味のある方は、早速、[ダウンロードページ](#)からツールのプログラムを無料入手して、インストールしてください。なお、インストールする前に、AIST-MeRAMの機能を一通り示した資料「[AIST-MeRAMを使った化審法対応リスク評価のデモ](#)」をぜひご覧になってください。

2013年7月に日本語版0.9.12を公開して以来、ユーザーから様々なご意見をいただきました。こうしたご意見やニーズを参考に機能の改善・拡充作業を行い、2014年12月にバージョンアップしたAIST-MeRAM1.0.1を公開しました。インストール前に、旧版(0.9.12)との違いについての資料「[日本語版0.9.12との違い](#)」をぜひご覧になってください。さらに、AIST-MeRAMの国際展開や化審法のアジア進出を狙って、AIST-MeRAMの英語版1.0.0を同時に公開しました。

今後、AIST-MeRAMが日本だけでなく海外のユーザーにも広く活用され、化学物質の生態リスク評価の標準化と普及に貢献できることを願っています。

図 12. AIST-MeRAM の WEB サイト（国立研究開発法人産業技術総合研究所）

Species Sensitivity Distribution Generator は、US EPA が開発した SSD 解析のための Microsoft Excel マクロテンプレートであり、Excel 上で対数正規分布を仮定した SSD の解析が可能となる。以下の WEB サイトから無料でダウンロード可能である：

http://www.epa.gov/caddis/da_software_ssdmacro.html

Introduction How to use the SSD Generator Calculations behind an SSD

Step 1) Select Data Step 2) Calculate Step 3) Fit Distribution

Introduction: What is the 'Species Sensitivity Distribution Generator'?

The Species Sensitivity Distribution Generator is a tool to create custom Species Sensitivity Distributions (SSDs). It fits a commonly applied distribution, the log-probit (i.e., linearized log-normal) to data for concentrations at which different species exhibit a standard response to a stressor. Using this tool, you may place stressor concentration data from your site in context of concentration-response data you selected for inclusion in an SSD. You may use your own data, data from the ECOTOX database or data from the CADDIS Metals SSD Library.

What are species sensitivity distributions?

Species sensitivity distributions (SSDs, example at right) model the variation in the sensitivity of different species to a stressor. SSDs assist in the interpretation of site data for stressor identification and risk assessment by relating them to the proportion of species expected to be affected at prescribed concentrations. SSDs are usually created using data from laboratory toxicity tests.

Creation of an SSD involves three basic steps:

- 1) **Select data** for the exposure intensities at which different species exhibit a standard response to the stressor.
- 2) **Calculate** proportions by first ranking these data from lowest to highest, then converting ranks to proportions: $\text{Proportion} = (\text{Rank} - 0.5) / \text{Number of Species}$.
- 3) **Fit a statistical or empirical distribution** to Proportion (y axis) vs. Stressor Intensity (x axis)

Key Concept

Standard Response: An equivalent response such as the concentration at which half of the individuals exposed die (LC50) or the concentration at which reproduction is reduced by 20% (EC20).

Citations

Neter, J., W. Wasserman and M.H. Kutner. 1990. Applied Linear Statistical Models, 3rd ed. Irwin, Boston, MA. 1184 pp.

Posthuma, L., G.W. Suter II, and TP Traas. 2002. Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. 587 pp.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 2005. Methods/indicators for determining when metals are the cause of biological impairments of rivers and streams: species sensitivity distributions and chronic exposure-response relationships from laboratory data. Cincinnati, Ohio, U.S. EPA, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment.

Species	Stressor Intensity (log scale)	Proportion Species
Lepomis gibbosus	~1.5	~0.2
Danio Rerio	~2.5	~0.5
Lepomis cyanellus	~4.5	~0.7
Lepomis macrochirus	~8.5	~0.9

図 13. SSD Generator の画面

日本語で書かれている SSD 解析方法に関する参考文献を紹介する。環境リスク解析入門 化学物質編 (吉田ほか 2006)、では Microsoft Excel を用いた SSD の解析方法について 詳細な解説と計算例が掲載されている。リスク評価の知恵袋シリーズ 2 不確実性をどう扱うか—データの外挿と分布— (中西ほか 2007) では、分布データをどう扱うかというテーマの下、生態リスク評価における SSD や曝露濃度の分布、さらにそれらを結合した確率論的リスク評価について詳細に解説されている。分布データの処理方法、そのリスク評価への活用法、歴史や海外での応用例、考え方や注意点などが記載されている。「化学物質の代替に伴うリスクトレードオフ評価のためのガイダンス (生態)」 (内藤ほか 2012) では、SSD を用いたリスクトレードオフ評価に資する基本的な考え方や手法に関する情報を提供しており、さらに限られた毒性データから SSD を推定するための有害性推論手法についても紹介されている。国立研究開発法人産業技術総合研究所の WEB サイトからダウンロード可能である : <https://www.aist-riss.jp/assessment/12341/>

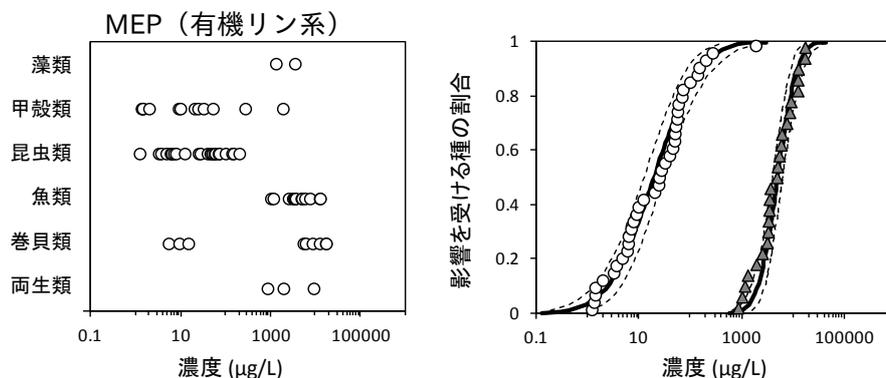
これらの参考文献は、SSD 解析の際に非常に有用な資料と考えられる。

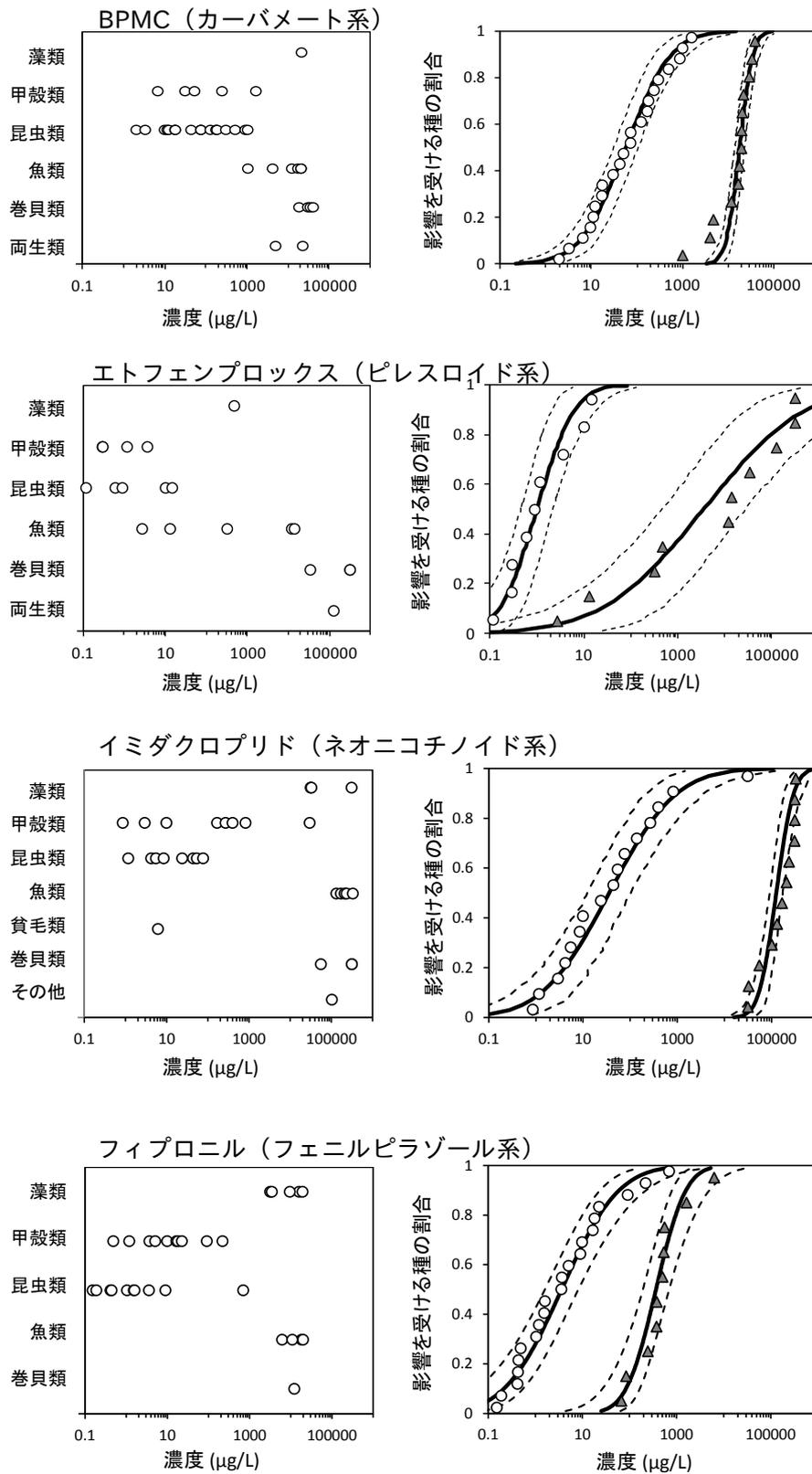
3.3. 主な水稲用農薬の SSD 解析結果

2.4.節にて構築したデータベースを用いて、主な水稲用農薬の SSD 解析を行った。殺虫剤については BPMC、カルボスルファン、ベンフラカルブ、カルボフラン、MEP、MPP、PAP、

ダイアジノン、フィプロニル、エチプロール、エトフェンプロックス、シラフルオフェン、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアクロプリド、チアメトキサム、ニテンピラム、スピノサド、ピメトロジン、カルタップ、チオシクラム、ジフルベンズロン、ブプロフェジン、テブフェノジド、クロラントラニリプロールに加え、カルボスルファンとベンフラカルブの主要代謝物であるカルボフランを含めた 26 剤、殺菌剤についてはヒドロキシイソキサゾール、オリサストロビン、IBP、イソプロチオラン、トリシクラゾール、フサライド、ピロキロン、TPN、プロベナゾールの 9 剤、除草剤についてはベンスルフロンメチル、イマゾスルフロン、ピラゾスルフロンエチル、シクロスルファミロン、プロピリスルフロン、ピリミスルファン、ピリミノバックメチル、シメトリン、ベンタゾン、オキサジアゾン、ペントキサゾン、オキサジアルギル、ピラクロニル、カルフェントラゾンエチル、ピラゾレート、ベンゾフェナップ、テフリルトリオン、ピラゾキシフェン、プレチラクロール、メフェナセット、カフェンストロール、ブタクロール、フェントラザミド、インダノファン、ベンチオカーブ、エスプロカルブ、モリネート、ベンフレセート、クロメプロップ、プロモブチド、ダイムロン、クミルロン、キノクラミンの 33 剤の、合計 68 剤の SSD を解析した (Nagai 2016)。その内の特徴的なものについて以下で紹介する。

図 14 に各種殺虫剤の解析結果を示す。作用機作によって SSD は明確に特徴付けられる。有機リン系 (MEP)、カーバメート系 (BPMC)、ピレスロイド系 (エトフェンプロックス) のような古くからある作用機作の殺虫剤の場合、節足動物とそれ以外の生物で感受性が明確に分離される。この特徴はネオニコチノイド系 (イミダクロプリド) になると一層強まり、ほぼ節足動物以外への毒性は見られなくなる。また、ネオニコチノイド系殺虫剤は、甲殻類内での種間の感受性差が非常に大きく、特にミジンコ類にはほとんど毒性を示さないという特徴がある。フェニルピラゾール系 (フィプロニル) でも、ミジンコに毒性が低いという同様の特徴が見られる。ネライストキシン系 (カルタップ) では、節足動物とそれ以外の SSD が交わるという変わった特徴を持つ。ブプロフェジンなどの昆虫成長制御剤の場合、従来の急性毒性試験では毒性を検出することが難しく、種間の感受性差もほとんど見られない。





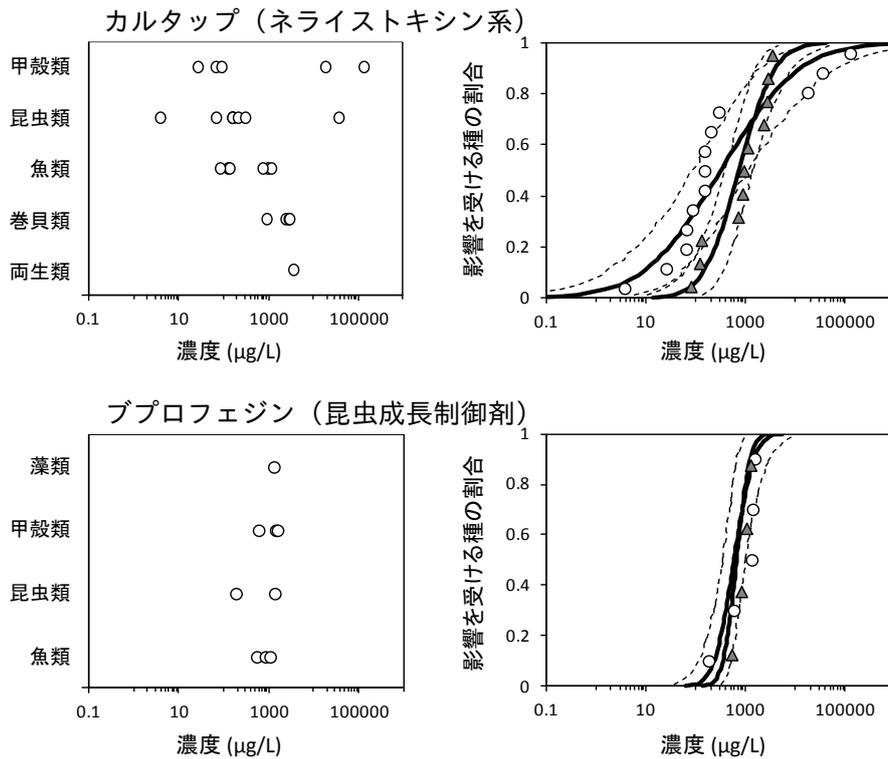


図 14. 各種殺虫剤の分類群毎の毒性値 (EC50、LC50 値) (左) と、種の感受性分布 (右)。左の図ではそれぞれの○が各属の毒性値の幾何平均値を示し、右の図では○が水生節足動物への毒性値を示し、▲はそれ以外の生物種への毒性値、実線は SSD の中央値で破線はその 90%信頼区間を示す。

図 15 に殺菌剤 IBP の SSD 解析例を示す。殺菌剤の場合は分類群による感受性差はほとんどなく、SSD を分離させる必要が無い。全体的に毒性も弱い。

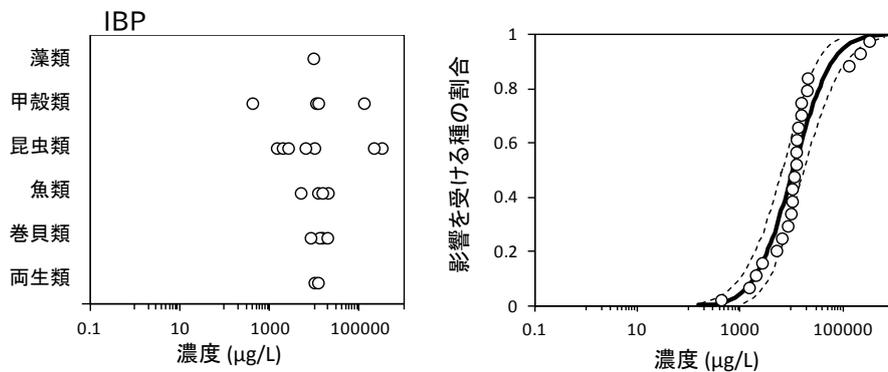
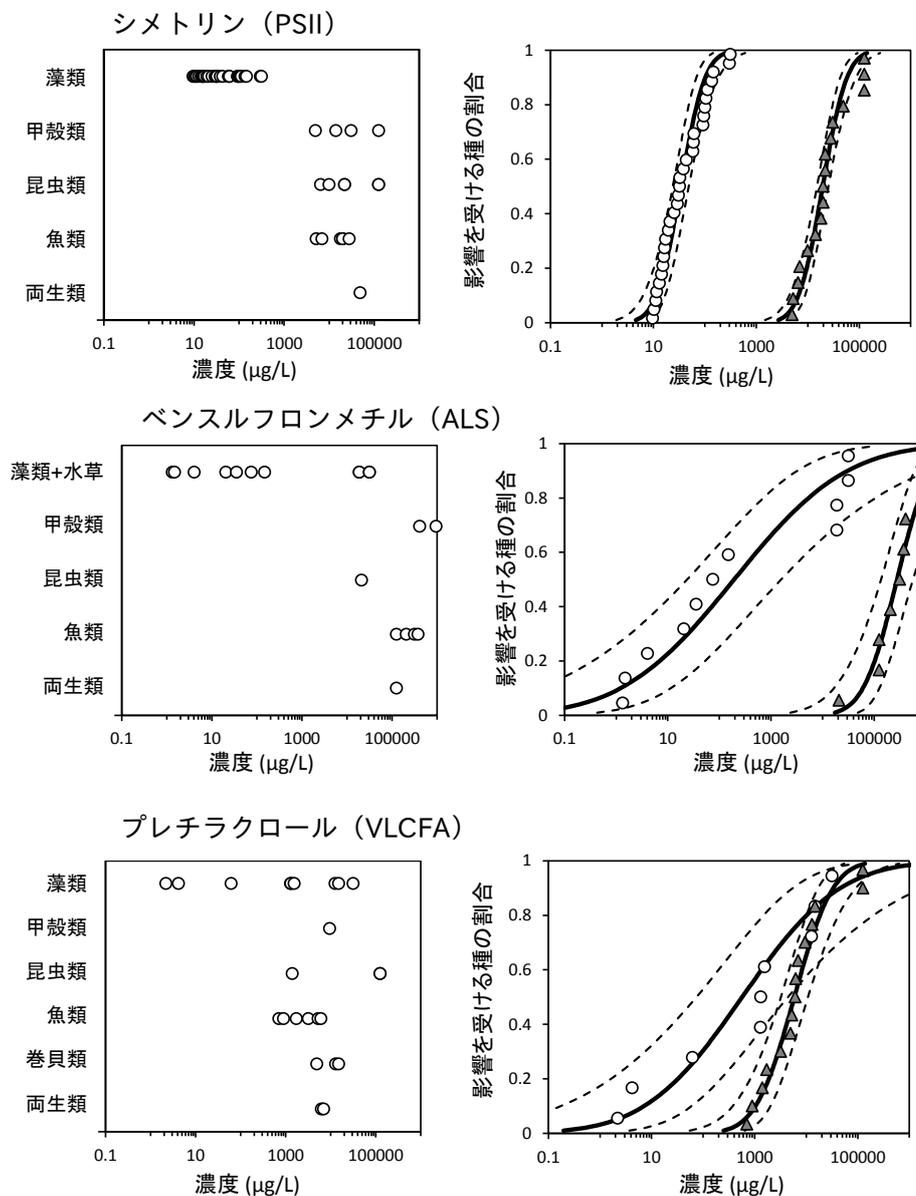


図 15. 各種殺菌剤の分類群毎の毒性値 (EC50、LC50 値) (左) と、種の感受性分布 (右)。

図 16 に、各種除草剤の解析結果を示す。殺虫剤と同様に、作用機作によって SSD は明確に特徴付けられる。光合成光化学系 II 阻害作用 (PSII) のシメトリンの場合、一次生産者とそれ以外の水生生物で感受性が明確に分離されるが、一次生産者間の感受性差はあまりない (10 倍程度)。アセト乳酸合成阻害作用 (ALS) のベンスルフロンメチルや超長鎖脂肪酸合成阻害作用 (VLCFA) のプレチラクロール、プロトポリフィリノーゲンオキシダーゼ阻害作用 (PPO) のペントキサゾンの場合にも一次生産者とそれ以外の水生生物で感受性が明確に分離されるが、一次生産者間の感受性差が非常に大きい (10000 倍以上)。4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害作用のピラゾレートの場合、藻類種間の感受性差は若干縮まる。脂質合成阻害作用 (Lipid) のエスプロカルブでは、藻類に対してもそれ以外の水生生物に対しても同程度に毒性を持っている特徴がある。作用機作によってグルーピングされないダイムロンのように、藻類にもほとんど毒性の見られない剤もある。



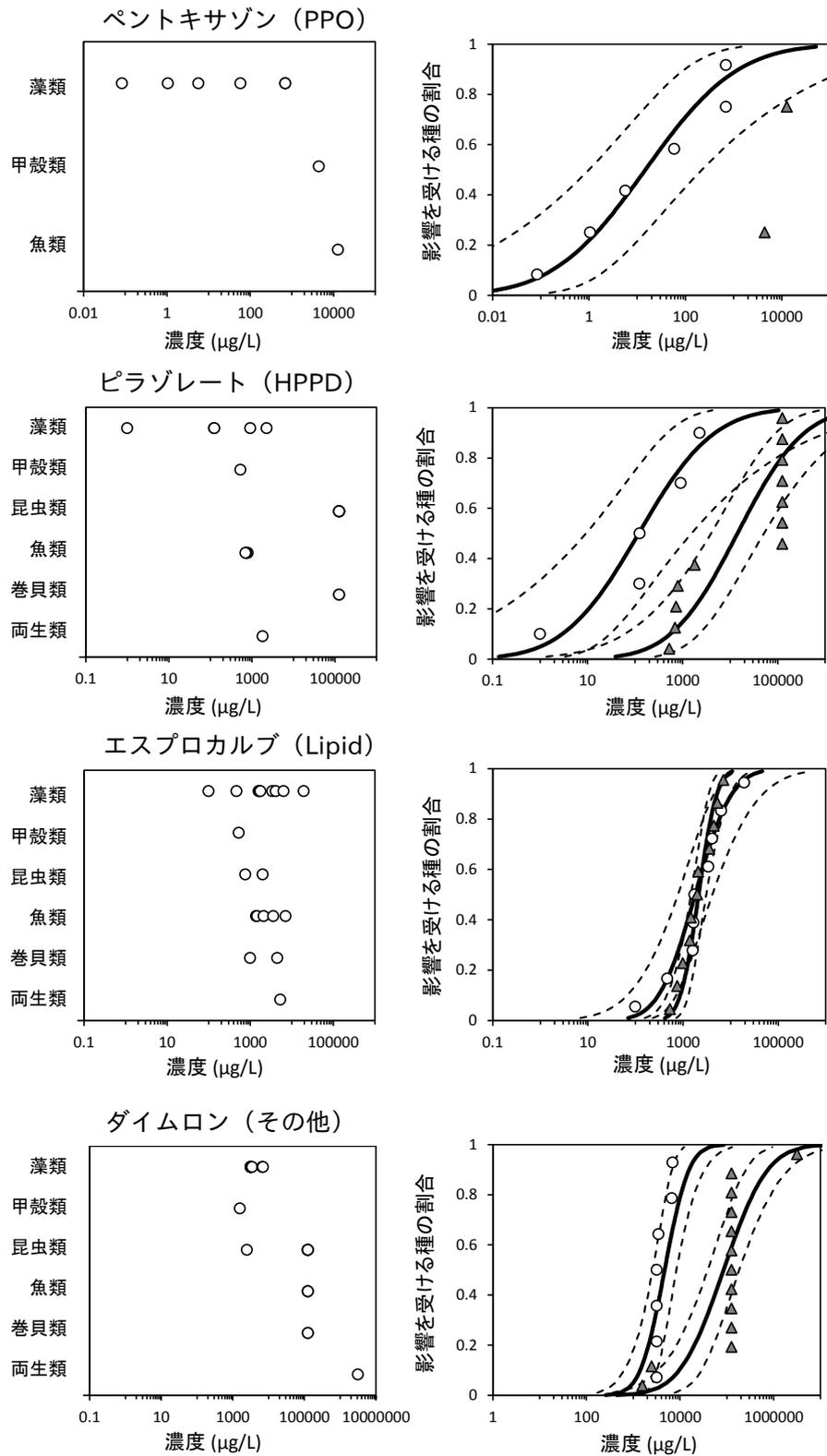


図 16. 各種除草剤の分類群毎の毒性値 (EC50、LC50 値) (左) と、種の感受性分布 (右)。右の図では○が水生一次生産者への毒性値を示し、▲はそれ以外の生物種への毒性値を示す。

最後に解析した 68 剤の SSD パラメータをまとめると表 4 (殺虫剤)、表 5 (殺菌剤)、表 6 (除草剤) のようになる (Nagai 2016)。なお、作用機作は Insecticide Resistance Action Committee、Fungicide Resistance Action Committee、Herbicide Resistance Action Committee をそれぞれ参考とした。ln Mean は相対的な毒性の強さを (高いほど毒性が弱い)、ln SD は種間の感受性差 (高いほど感受性差が大きい) を示す。殺虫剤では 4A, 5, 15 の作用機作の殺虫剤 (ネオニコチノイド系、スピノサド、ジフルベンズロン) について、ln SD が他の殺虫剤よりも有意に高かった。

表 4. 26 種の殺虫剤の作用機作、節足動物を対象とした SSD パラメータ (ln Mean と ln SD) と解析に用いたデータ数 (n)、HC5 とその 90%信頼区間 (カッコ内)

殺虫剤	作用機作*	節足動物 SSD			HC5 ($\mu\text{g/L}$)
		ln Mean	ln SD	n	
BPMC	1A	4.04	1.81	22	2.9 (0.81-6.6)
カルボスルファン	1A	0.18	0.80	8	0.32 (0.093-0.56)
ベンフラカルブ	1A	1.79	1.06	5	1.1 (0.070-2.5)
カルボフラン	1A	3.50	1.84	9	1.6 (0.13-5.4)
MEP	1B	2.98	1.63	37	1.4 (0.59-2.4)
MPP	1B	2.49	2.06	31	0.41 (0.13-0.91)
PAP	1B	1.60	1.88	11	0.22 (0.025-0.70)
ダイアジノン	1B	2.98	1.66	23	1.3 (0.41-2.7)
フィプロニル	2B	1.29	2.17	21	0.10 (0.021-0.28)
エチプロール	2B	5.17	2.65	5	2.3 (0.0026-20)
エトフェンプロックス	3A	0.35	1.71	10	0.085 (0.0098-0.25)
シラフルオフェン	3A	0.35	2.18	5	0.039 (0.00015-0.24)
イミダクロプリド	4A	3.58	2.59	16	0.51 (0.039-1.7)
クロチアニジン	4A	4.37	3.01	6	0.56 (0.0011-5.7)
ジノテフラン	4A	8.00	4.06	7	3.8 (0.0030-71)
チアクロプリド	4A	7.01	3.96	8	1.6 (0.0037-25)
チアメトキサム	4A	7.68	3.47	7	7.1 (0.016-89)
ニテンピラム	4A	7.39	2.88	5	14 (0.0090-150)
スピノサド	5	5.49	3.52	7	0.74 (0.0018-10)
ピメトロジン	9B	12.58	0.98	5	58000 (4700-130000)
カルタップ	14	5.78	2.85	13	3.0 (0.16-15)
チオシクラム	14	4.98	1.93	7	6.1 (0.21-25)
ジフルベンズロン	15	4.30	4.49	16	0.046 (0.00088-0.47)
ブプロフェジン	16	6.39	0.72	5	180 (29-330)
テブフェノジド	18	7.22	1.11	8	220 (40-470)
クロラントラニリプロール	28	4.83	1.90	11	5.5 (0.60-17)

* 1A, 1B: アセチルコリンエステラーゼ阻害; 2B: GABA 作動性塩素イオンチャネルブロッカー; 3A: ナトリウムイオンチャンネルモジュレーター; 4A: アセチルコリン受容体競合的モジュレーター; 5: アセチルコリン受容体アロステリックモジュレーター; 9B: 摂食阻害; 14: アセチルコリン受容体チャネルブロッカー; 15: キチン生合成阻害タイプ 0; 16: キチン生合成阻害タイプ 1; 18: 脱皮ホルモン受容体アゴニスト; 28: リアノジン受容体モジュレーター

殺菌剤では TPN の ln SD が高かったが、明確な生物群間の感受性差は見られなかった。

表 5. 9 種の殺菌剤の作用機作、節足動物を対象とした SSD パラメータ (ln Mean と ln SD) と解析に用いたデータ数 (n)、HC5 とその 90%信頼区間 (カッコ内)

殺菌剤	作用機作*	全生物SSD			HC5 ($\mu\text{g/L}$)
		ln Mean	ln SD	n	
ヒドロキシイソキサゾール	A3	12.57	1.40	13	29000 (6800-63000)
オリサストロビン	C3	7.68	0.87	5	520 (56-1100)
IBP	F2	9.29	1.37	22	1100 (430-2100)
イソプロチオラン	F2	9.25	0.45	16	5000 (3300-6300)
トリシクラゾール	I1	10.07	1.08	17	4000 (1600-6900)
フサライド	I1	11.46	1.57	17	7200 (1900-16000)
ピロキロン	I1	10.87	0.68	15	17000 (9200-25000)
TPN	M	7.02	3.72	25	2.5 (0.22-12)
プロベナゾール	P2	10.09	1.64	13	1600 (300-4100)

* A3: DNA/RNA 合成阻害; C3: 複合体 III ユビキノール酸化酵素阻害; F2: リン脂質生合成阻害; I1:メラニン生合成阻害; M: 多作用点; P2: 宿主の抵抗性誘導

除草剤では、B, E, K3 の作用機作の除草剤について、ln SD が他の除草剤よりも有意に高かった。以上のように、作用機作と SSD の傾きの大きさ（種間差の大きさ）は関連していると考えられる。

表 6. 33 種の除草剤の作用機作、節足動物を対象とした SSD パラメータ (ln Mean と ln SD) と解析に用いたデータ数 (n)、HC5 とその 90%信頼区間 (カッコ内)

除草剤	作用機作*	一次生産者SSD			HC5 ($\mu\text{g/L}$)
		ln Mean	ln SD	n	
ベンスルフロメチル	B	5.27	3.84	11	0.35 (0.0039-3.6)
イマゾスルフロ	B	6.70	3.16	8	4.5 (0.034-39)
ピラゾスルフロエチル	B	4.44	3.48	5	0.28 (0.000038-4.9)
シクロスルファミロン	B	5.91	4.36	6	0.28 (0.000035-8.1)
プロピリスルフロ	B	7.29	2.79	6	15 (0.047-130)
ピリミスルファン	B	6.07	2.95	7	3.4 (0.019-29)
ピリミノバックメチル	B	10.96	0.25	6	38000 (23000-46000)
シメトリン	C1	3.53	0.85	31	8.5 (5.2-12)
ベンタゾン	C3	9.66	0.75	6	4600 (970-8100)
オキサジアゾン	E	4.20	2.85	5	0.62 (0.00042-6.5)
ペントキサゾン	E	2.69	3.28	6	0.067 (0.000077-0.84)
オキサジアルギル	E	3.29	3.24	8	0.13 (0.00088-1.2)
ピラクロニル	E	4.88	3.32	6	0.56 (0.00059-7.2)
カルフェントラゾンエチル	E	4.52	2.98	9	0.68 (0.011-4.8)
ピラゾレート	F2	4.78	2.68	5	1.4 (0.0015-13)
ベンゾフェナップ	F2	5.15	1.45	6	16 (0.80-49)
テフリルトリオン	F2	10.40	1.45	6	3000 (150-9200)
ピラゾキシフェン	F2	7.30	1.81	6	76 (1.8-300)
プレチラクロール	K3	6.35	3.30	9	2.5 (0.026-22)
メフェナセット	K3	7.47	1.95	9	71 (4.8-250)
カフェンストロール	K3	6.68	2.88	10	7.0 (0.18-43)
ブタクロール	K3	6.25	3.17	6	2.8 (0.0041-32)
フェントラザミド	K3	7.25	3.27	6	6.5 (0.0076-81)
インダノファン	K3	6.23	3.37	6	2.0 (0.0019-27)
ベンチオカーブ	N	6.64	2.25	9	19 (0.84-82)
エスプロカルブ	N	7.49	1.34	9	200 (31-480)
モリネート	N	8.42	1.31	8	530 (70-1300)
ベンフレセート	N	10.28	1.01	6	5500 (690-12000)
クロメプロップ	O	5.42	1.31	5	26 (0.92-77)
ブロモブチド	Z	9.72	0.72	5	5100 (810-9200)
ダイムロン	Z	8.45	0.94	7	1000 (190-2000)
クミルロン	Z	8.72	1.16	6	910 (83-2200)
キノクラミン	Z	3.79	0.76	7	13 (3.3-22)

* B: アセト乳酸生合成阻害; C1, C3: 光合成光化学系 II 阻害; E: プロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ阻害; F2: 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害; K3: 超長鎖脂肪酸生合成阻害; N: 脂質生合成阻害; O: オーキシン作用; Z: 不明

3.4. HC5 と水産保留基準

3.3.節で解析した 68 剤の SSD から計算された HC5 値と水産登録保留基準値とを比較した (Nagai 2016)。ここでは HC5 を「より妥当性の高い」水生生物保全のための濃度とみなす。その理由は以下のとおりである：

- 1) SSD は感受性の高い分類群内で最低 5 種以上のデータで解析しているため、より幅広い生物種をカバーしている
- 2) 保留基準では最も低い毒性値のみを使用し、それ以外のデータは使用しないが、SSD ではすべての毒性データを活用して「種間の感受性差」がどれくらいあるかという情報から安全濃度を推定している
- 3) 最も低い毒性値を使う方法では、どれだけ種数を増やしても「もっと感受性の高い種がいるかもしれない」という疑問が常につきまとうが、SSD では「もっと感受性の高い種がいるかもしれない」という可能性を最初から認め、その可能性をできるだけ低く（通常 5%）抑える濃度を推定できる
- 4) HC5 は推定の信頼度（90%信頼区間で表現される）が定量的に示されている
- 5) HC5 は根拠の薄い不確実性係数（魚類と甲殻類で 10、藻類で 1）を使用していない
- 6) 諸外国では不確実係数を用いる方法よりも信頼度の高い方法として活用されている

水産登録保留基準値が未設定である場合は、殺虫剤の場合はオオミジンコ、除草剤の場合は緑藻 *P. subcapitata* の EC50 値を不確実性係数（それぞれ 10、1）で割った試算値で代用した。比較した結果を図 17 に示す。68 農薬のうち 50 農薬は水産登録保留基準値と HC5 の差が 10 倍以内であり、同程度と判断された。つまり、多くの農薬については現行の水産登録保留基準値で HC5 と同程度の安全性が担保されていることになる。殺菌剤は全ての対象剤で差は 10 倍以内であった。しかしながら、残りの 18 農薬（9 殺虫剤+9 除草剤）で、保留基準は HC5 よりも 10 倍以上高く、現行の水産登録保留基準値でリスクが過小評価されていると判断された。さらに、これらの 18 農薬は特定の作用機作に偏っていた。殺虫剤では 2B, 4A, 5 の作用機作（フェニルピラゾール系、ネオニコチノイド系、スピノサド）、除草剤では B, E, F2 の作用機作（ALS 阻害系、PPO 阻害系、HPPD 阻害系）である。特に、作用機作 4A、つまりネオニコチノイド系についてはその差が 511~16820 倍と特に大きく、現行制度に問題があることが示唆された。

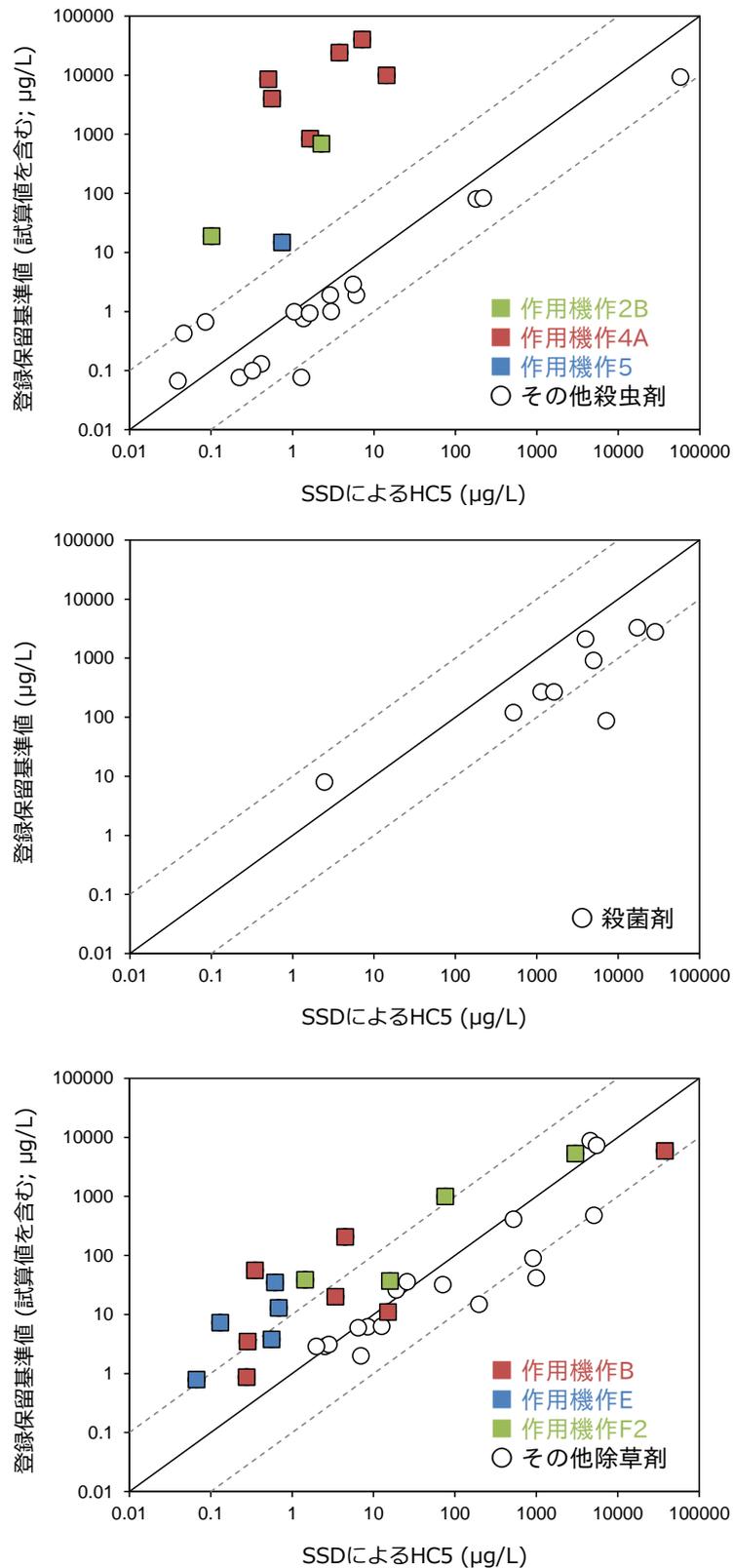


図 17. HC5 と登録保留基準値の比較。実線は 1:1 のライン、破線は 1:10、10:1 のラインを示す。

水産登録保留基準値が HC5 よりも 10 倍以上高かった 18 農薬について、標準試験生物種（殺虫剤はオオミジンコ、除草剤は *Pseudokirchneriella subcapitata*）に対する毒性値と、収集した毒性データの中で最も感受性の高い種の毒性値を比較した（表 7）。殺虫剤ではほとんどの農薬においてコガタシマトビケラ（*Cheumatopsyche*）が最も感受性が高く、その差は 1000 倍以上の開きがあった。他にはカイミジンコ（*Cyprretta*）やコカゲロウ（*Baetis*）、フタバカゲロウ（*Cloeon*）等が感受性が高かった。除草剤では作用機作毎に明確な特徴があった。作用機作 B ではウキクサ（*Lemna*）かシアノバクテリア（*Pseudanabaena*）、作用機作 E では緑藻 *Desmodesmus*、作用機作 F2 では珪藻 *Navicula* が最も感受性が高かった。以上のように、作用機作によってどの生物種に感受性が高いかは明確に特徴付けられる。

表 7. 標準種と最も感受性の高い種に対する EC50 値（ $\mu\text{g/L}$ ）の比較

殺虫剤	作用機作	オオミジンコ に対する EC50	最も感受性の高い種	最も感受性の高い種 に対する EC50
フィプロニル	2B	12.9-190	<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>	0.153
エチプロール	2B	>8330	<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>	8.05
イミダクロプリド	4A	10440-95000	<i>Cyprretta seurati</i>	1
クロチアニジン	4A	40000-73000	<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>	4.44
ジノテフラン	4A	>100000	<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>	10.4
チアクロプリド	4A	>85100	<i>Baetis rhodani</i>	4.6
チアメトキサム	4A	>400000	<i>Cloeon sp.</i>	14
ニテンピラム	4A	>100000	<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>	45
スピノサド	5	1480	<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>	0.918
除草剤	作用機作	標準緑藻 に対する EC50	最も感受性の高い種	最も感受性の高い種 に対する EC50
ベンスルフロンメチル	B	20.4-62	<i>Lemna gibba</i>	0.8
イマゾスルフロン	B	206-1000	<i>Lemna gibba</i>	1.46
シクロスルファミロン	B	3.5	<i>Pseudoanabaena galeata</i>	3.1
オキサジアゾン	E	4.23-35.7	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	1.5
ペントキサゾン	E	0.846-1.31	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	0.084
オキサジアルギル	E	7.3	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	0.21-1
カルフェントラゾンエチル	E	13.9	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	1.55
ピラゾレート	F2	>38.9	<i>Navicula pelliculosa</i>	1.0
ピラゾキシフェン	F2	>1000	<i>Navicula pelliculosa</i>	63.2

3.5. SSD とメソコスム試験の結果の比較

メソコスム・マイクロコスム試験とは、野外又は屋内に人工的に設置した水界を用いて農薬添加の生物群集に対する応答を調べる試験である。多種類の生物が生息している系であるため、生物間相互作用や比較的長期的な影響を見ることができるとの利点である。EUにおける水域生態毒性のガイダンス文書（SANCO 2002）の中では、試験期間は8週間で、濃度区毎に5段階(Class1~5)で影響を評価すると記載されている。Class1 No effect（無影響）、Class2 Slight effect（散布直後の数日のみ）、Class3 Clear short-term effect（数日以上の影響があるが、試験期間内に回復する）、Class5 Clear effect with no recovery（影響が大きく、試験期間内に回復できない）。また、Class4は試験期間内に数回農薬を添加しても回復できる影響を示す。本技術資料では、このClass1を $NOEC_{eco}$ 、Class2を $LOEC_{eco}$ 、Class3を RC_{eco} （Recoverable Concentration）と定義し、この濃度と3.3節で解析したSSDの結果を比較することで、影響を受ける種の割合の生態学的意味付けの考察を試みる。

◆ 本研究で解析したSSDとメソコスム試験の文献情報との比較

van Wijngaarden et al. (2005)は数種の有機リン系殺虫剤とピレスロイド系殺虫剤のメソコスム試験結果をレビューし、上記のClass1~5の評価を行った。MEPについては、 $NOEC_{eco} = 1.1 \mu\text{g/L}$, 18.7, 30.8, 80, 460 $\mu\text{g/L}$ でClass3~5の影響と評価された。このうち、460 $\mu\text{g/L}$ では試験期間内に回復が認められなかったため、 $RC_{eco} = 18.7 \sim 80 \mu\text{g/L}$ と評価された。

Giddings et al. (1996)はダイアジノンを用いた野外メソコスム試験を行った。70日間の試験期間にダイアジノンを3回添加し、その平均濃度で評価を行った。結果として、 $NOEC_{eco}$ が4.3 $\mu\text{g/L}$ 、 $LOEC_{eco}$ が9.2 $\mu\text{g/L}$ と評価された。

BPMCでは1つのメソコスム試験情報が得られた（国立環境研究所 2012）。環境省が行った平成23年度農薬による生物多様性への影響評価事業では、500Lのポリエチレン丸型タンクを用いた室内止水メソコスムを作成し、BPMCを高濃度（69.3 $\mu\text{g/L}$ ）、中濃度（3.5 $\mu\text{g/L}$ ）、低濃度（0.155 $\mu\text{g/L}$ ）の3段階で添加して生物群集への影響を調べた。このうち、高濃度はBPMCのSSDの50パーセンタイル（HC50）に相当し、中濃度は同5パーセンタイル（HC5）値に相当する。結果として、高濃度区においてもコントロール区と比較して明確な影響は観察されず、 $NOEC_{eco} = 69.3 \mu\text{g/L}$ と評価された。

EFSAにおけるエトフェンプロックスのリスク評価書（EFSA 2008b）では、メソコスム試験の概要が記載されており、114日間5段階の濃度でため池型のメソコスム試験が行われた。カイアシ類やミズムシ類が最も感受性が高く、 $NOEC_{eco} = 0.05 \mu\text{g/L}$ と評価された。

イミダクロプリドでは4つのメソコスム試験の情報が得られた。Pestana et al. (2009)では、野外の流水系のメソコスムを用いて、一日間1.6 $\mu\text{g/L}$ と17.6 $\mu\text{g/L}$ の濃度で曝露させた後、20日後の底生動物への影響を見ている。1.6 $\mu\text{g/L}$ では曝露させないコントロ

ール区との有意差が無かったが、17.6 $\mu\text{g/L}$ では有意に水生昆虫の密度が減少していた。Sánchez-Bayo and Goka (2006) では、野外の小型水田型のメソコスムにイミダクロプリドを施用して水田の生物に対する影響を調べた。その結果、イミダクロプリドの最大濃度は 240 $\mu\text{g/L}$ で、生物群集の多様度にコントロール区との有意差が一ヶ月間程度見られた。また、USDA (2005) によると、様々な動植物が生息するタンク型のメソコスムで 19 週間実験を行った結果、水生節足動物群集への無影響濃度は 2 $\mu\text{g/L}$ と評価された。端脚類に限れば 2 $\mu\text{g/L}$ でも有意な影響が見られた。さらに EFSA (2008a) によると、メソコスム試験の結果として底生動物群集に対する無影響濃度は 0.6 $\mu\text{g/L}$ であり、1.5 $\mu\text{g/L}$ では若干の影響が見られた。この結果をまとめると、 $\text{NOEC}_{\text{eco}} = 0.6 \sim 1.6 \mu\text{g/L}$ 、 $\text{LOEC}_{\text{eco}} = 1.5 \sim 17.6 \mu\text{g/L}$ 、 $\text{RC}_{\text{eco}} = 240 \mu\text{g/L}$ と評価された。

フィプロニルでは 1 つのメソコスム試験の情報が得られた。Wirth et al. (2004) では、海水のため池型メソコスム試験を行い、曝露濃度が 0.15 $\mu\text{g/L}$ では影響が無かったが、0.35 $\mu\text{g/L}$ ではエビ類に有意な影響が見られ、5 $\mu\text{g/L}$ ではさらに影響が強くなったが 7 週間後には回復が見られた。すなわち、 $\text{NOEC}_{\text{eco}} = 0.15 \mu\text{g/L}$ 、 $\text{LOEC}_{\text{eco}} = 0.35 \mu\text{g/L}$ 、 $\text{RC}_{\text{eco}} = 5 \mu\text{g/L}$ と評価された。

Maltby et al. (2005) では、ジフルベンズロンのメソコスム試験がレビューされており、 NOEC_{eco} が 0.3 $\mu\text{g/L}$ 、 LOEC_{eco} が 0.7 $\mu\text{g/L}$ と評価された。また、US EPA によるジフルベンズロンの評価書 (US EPA 1997) では、ため池を用いたメソコスム試験にて、2.5, 5, 10 $\mu\text{g/L}$ のいずれの濃度でも動物プランクトンに影響を受けたが、6 週間以内に回復が見られたという結果が記載されている。さらに、Hansen and Garton (1982) では、流水系の野外メソコスム試験にて、ジフルベンズロン濃度が 0.1 $\mu\text{g/L}$ では影響が見られなかったが、1.0, 10 $\mu\text{g/L}$ では水生昆虫などに影響が見られた。これらの結果から、おおむね NOEC_{eco} が 0.3 $\mu\text{g/L}$ 、 LOEC_{eco} が 0.7 $\mu\text{g/L}$ と見なすことができる。

シメトリンでは 2 つのメソコスム・マイクロコスム試験の情報が得られた。Chang et al. (2011) では、50L 規模の野外マイクロコスム試験を 2 週間行い、20 $\mu\text{g/L}$ の曝露濃度ではプランクトン群集への影響は見られたが、試験期間内に回復が見られた。100 $\mu\text{g/L}$ の曝露濃度では試験期間内に回復は見られなかった。国立環境研究所 (1995) では、1500 L 規模の陸上コンクリート型野外メソコスム試験を約二ヶ月間行い、100 $\mu\text{g/L}$ の曝露濃度では植物、動物プランクトン群集への影響は見られたが、試験期間内に回復が見られた。1000 $\mu\text{g/L}$ の曝露濃度では植物、動物プランクトン群集への影響大きく、試験期間内に回復が見られなかった。まとめると、 $\text{RC}_{\text{eco}} = 20 \sim 100 \mu\text{g/L}$ と評価された。

プレチラクロールでは 1 つのメソコスム試験情報が得られた。財団法人日本植物調整剤研究協会は、水田を想定した薬剤散布区とそれに隣接する野外水路からなるメソコスムを作成し、プレチラクロールを散布してその排水が流下する野外水路における藻類群集への影響を調べた (村岡 2009)。無処理区に加えてプレチラクロールの最大濃度が 11.3 $\mu\text{g/L}$ の区と 3.0 $\mu\text{g/L}$ の区が設定されたが、付着藻類群集の動態は無処理区とほぼ同様で明確な影響は観察されなかった。結果として、 $\text{NOEC}_{\text{eco}} = 11.3 \mu\text{g/L}$ と評価された。

ベンチオカーブでは 1 つのメソコスム試験の情報が得られた。安野ら (1988) では、2000 L 規模のポリエチレンバッグ型の野外メソコスム試験を約一ヶ月行い、100 $\mu\text{g/L}$ の

曝露濃度では植物、動物プランクトン群集への影響は見られたが、試験期間内に回復が見られた。1000 $\mu\text{g/L}$ の曝露濃度では植物、動物プランクトン群集への影響大きく、試験期間内に回復が見られなかった。結果として、 $\text{RC}_{\text{eco}} = 100 \mu\text{g/L}$ と評価された。

以上の結果をまとめると表 8 のようになる。おおむね HC5 は NOEC_{eco} と比べて同様の値か、安全側（低濃度側）に位置していることがわかる。すなわち、「5%の種に対する影響」は野外の生物群集のレベルでは検出できないほど影響が低いことが示唆される。HC5 が基準値設定の根拠とされているのはこのような比較結果が支えている。

さらに RC_{eco} 、すなわち回復可能濃度に注目した。 RC_{eco} における影響を受ける種の割合を各農薬の SSD から計算すると、MEP の場合は節足動物の 63~86%、イミダクロプリドで節足動物の 78%、フィプロニルで節足動物の 54%と計算された。シメトリンの場合は一次生産者の 27~90%、ベンチオカーブで一次生産者の 19%と計算された。このような影響を受けると計算される場合であっても、実際の環境中では回復可能な影響であることが示された。すなわち、半分程度の種が一時的に影響を受けても、生態系は曝露終了後に回復できる強い回復力を持っていることが示唆された。

表 8. 水産登録保留基準値 (*印は試算値) と HC5、メソコスム試験の比較 ($\mu\text{g/L}$)

	保留基準	HC5	メソコスム試験		
			NOEC_{eco}	LOEC_{eco}	RC_{eco}
MEP	0.76*	1.4	1.1	-	18.7-80
ダイアジノン	0.077	1.3	4.3	9.2	-
BPMC	1.9	2.9	69.3	-	-
エトフェンプロックス	0.67	0.085	0.05	-	-
イミダクロプリド	8500	0.51	0.6-1.6	1.5-17.6	240
フィプロニル	19	0.10	0.15	0.35	5
ジフルベンズロン	0.43	0.046	0.3	0.7	-
シメトリン	6.2	8.5	-	-	20-100
プレチラクロール	2.9	2.5	11.3	-	-
ベンチオカーブ	26	19	-	-	100

◆ Malyby et al. (2005) による殺虫剤の SSD とメソコスム試験の比較

この研究では、比較的毒性データが豊富な有機リン系殺虫剤とピレスロイド系殺虫剤を対象として、SSD 解析を行い、メソコスム試験との比較を行っている。まず SSD 解析においては、種の選定についての検討を行っている。分類群による違い（節足動物とそれ以外）、淡水種と海水種、温帯種と熱帯種などの区分によって SSD がどう変化するかを検討した。分類群による違いが最も顕著であり、淡水種と海水種、温帯種と熱帯種などの区分は SSD にあまり影響を与えなかった。これは、各国や各地域に生息する生物種の違いを SSD に反映させてもあまり意味がないことを示している。

次に、van Wijngaarden (2005) がレビューしたメソコスム試験のクラス分類を SSD と比較した。ここでは単回散布の結果のみを使用し、 NOEC_{eco} 、 LOEC_{eco} 、Class 3~5 に

相当する濃度を節足動物に対する SSD を用いて影響を受ける種の割合に変換してグラフに示した（図 18）。 $NOEC_{eco}$ に相当する影響を受ける種の割合は平均 15.7%、 $LOEC_{eco}$ に相当する影響を受ける種の割合は平均 23.1%、Class 3~5 に相当する影響を受ける種の割合は平均 33.8%であった。剤によるバラツキはあるものの、おおむね影響を受ける種の割合が 10%程度のときは、野外での影響は検出することが難しいことがわかる。

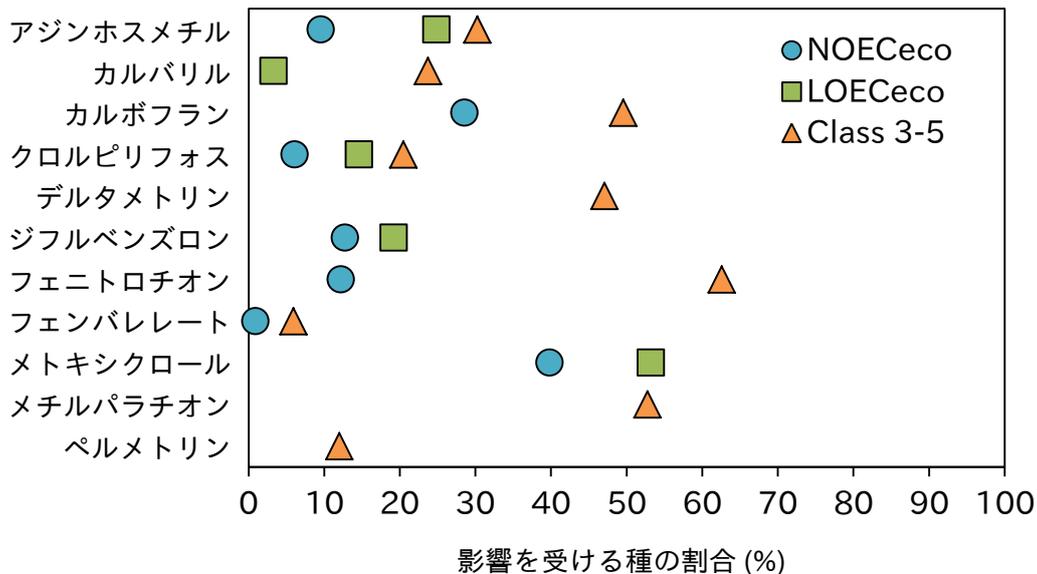


図 18. 野外節足動物群集への影響度と影響を受ける種の割合との関係

◆ van den Brink et al. (2006) による除草剤の SSD とメソコスム試験の比較

この研究では、比較的毒性データが豊富な除草剤を対象として、SSD 解析を行い、メソコスム試験との比較を行っている。SSD 解析においては、藻類に高等植物を加えた一次生産者とその他の動物とで明確に SSD が分かれることを示し、除草剤の SSD は一次生産者のデータに基づいて解析することが必要と結論している。メソコスム試験については、既存研究のレビューを行い、 $NOEC_{eco}$ 、 $LOEC_{eco}$ 、 RC_{eco} に相当する影響濃度を決定した。ここでは単回散布の結果のみを使用し、また曝露期間の長さによって 4 つに試験を分類している：パルス曝露（24 h のみの曝露）、短期間曝露（半減期 10 日以内）、中期間曝露（半減期 10~25 日）、長期間曝露（半減期 25 日以上）。生物群集に対する各影響濃度を、一次生産者に対する SSD を用いて影響を受ける種の割合に変換し、グラフに示した（図 19）。 $NOEC_{eco}$ に相当する影響を受ける種の割合は平均 6.3%、 $LOEC_{eco}$ に相当する影響を受ける種の割合は平均 16.1%、 RC_{eco} に相当する影響を受ける種の割合は平均 39.7%であった。

図 19 では、グラフが下に行くほど（曝露期間が長くなるほど）、各影響に相当する影響を受ける種の割合が下がっていることがわかる。つまり、曝露期間が長ければ、SSD で予想される影響よりも実際の影響が大きくなってしまう。パルス曝露においては、 $NOEC_{eco}$ に相当する影響を受ける種の割合は 18.8~41.3%であるが、より長期の曝露では 5%以下と

なっている。LOEC_{eco}、RC_{eco}についてもほぼ同様の傾向をとっている。SSD は急性毒性の積み上げにより解析しているため、曝露期間が長くなれば SSD と実際の影響度との関係は変化すると考えられるが、この研究でそれが実証された形となっている。急性毒性の SSD で影響を予測する場合には、おおむね短期間曝露（半減期 10 日以下）に限って使用するのが望ましいと考えられる。より長期の影響の予測には慢性毒性データを用いた SSD 解析が必要となるだろう。

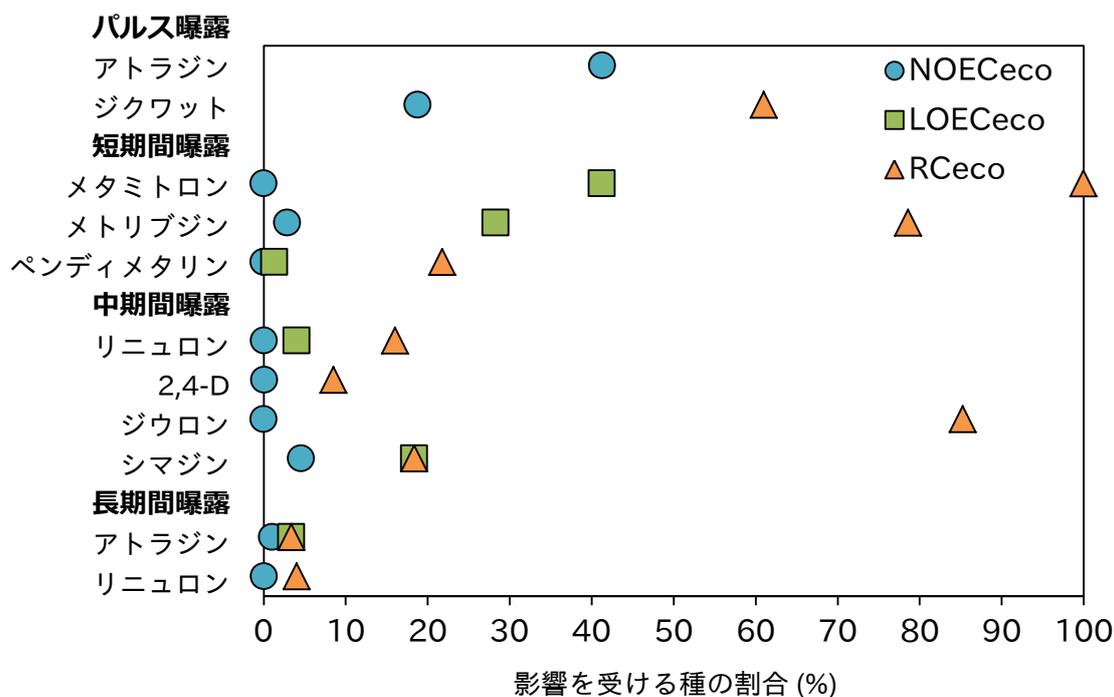


図 19. 野外生物群集への影響度と影響を受ける種の割合との関係

3.6. SSD を活用した生態リスク評価

生態リスク評価の基本的な考え方として、急性毒性試験をベースとした EC50 又は LC50 値と農薬使用時の河川水中ピーク濃度に相当する PEC の比較により、リスクを評価する手法を適用する。すなわちここでのリスク評価では、EC50 又は LC50 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。そして、急性毒性試験をベースとした SSD と曝露濃度から計算した「影響を受ける種の割合」を定量的なリスク指標とする。この手法は室内急性毒性試験をベースとしているため、生態系管理の目標である生物個体群の存続可能性などを評価しているわけではない。このギャップの橋渡しには以下のような仮定が必要となる：

「水稲用農薬は、その種類毎に一年の決まった時期に使用するものである。すなわち、それ以外の期間において、生態系は一時的な影響からの回復期間にあると考えられる。その

ため、濃度のピーク時に生物個体群の半数程度に影響がでてでも影響は一時的なため、その後回復が見込まれる」。

しかしながら、このような仮定が成立するかどうかは検証されていない。本来であれば、年間を通した農薬の濃度推移と、それによる個体群に対する一時的影響とその後の回復過程を評価する必要があるが、そのための手法が現時点では実用化されていない。そこで、本技術資料では当面のものとして、これまでのデータの蓄積が比較的豊富な急性毒性試験結果を用い、得られる情報を最大限有効に利用してリスクを定量化するための方法を紹介する。

◆ 決定論的リスク評価（毒性も曝露も固定値を使用）

毒性も曝露も固定値を使用する方法で、最も単純な評価法である。毒性値として SSD 解析から得られた HC5、曝露の値として PEC もしくは河川水モニタリングデータを用いる。結果としてリスクの有り無しが二者択一的に判断される。

◆ 半確率論的リスク評価（曝露は固定値、毒性は分布を使用）

曝露は固定値として PEC もしくは河川水モニタリングデータのピーク濃度を用いるが、毒性は SSD をそのまま分布として活用し、影響を受ける種の割合を計算する手法である。Microsoft Excel を用いて計算する場合には、NORMDIST 関数を用いて図 20 のようなシートを作成して値を入力する（詳細は 6.2.節付録を参照）。入力するパラメータは、SSD のパラメータ二つ（対数平均 ln Mean と対数標準偏差 ln SD: 表 4~6 を参照）と河川水中農薬濃度 ($\mu\text{g/L}$) である。

計算結果として、影響を受ける種の割合とその判定が示されている。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。ここではオランダの水質基準値導出方法（1.4.節参照）を参考に以下の 4 段階の判定を行った：

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, N.D.)

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 3.5.節で示したように野外で影響を見いだすことが困難なほど低い影響であるため、リスク低とみなす。また、3.5.節で示したように、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、HC50 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。

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。

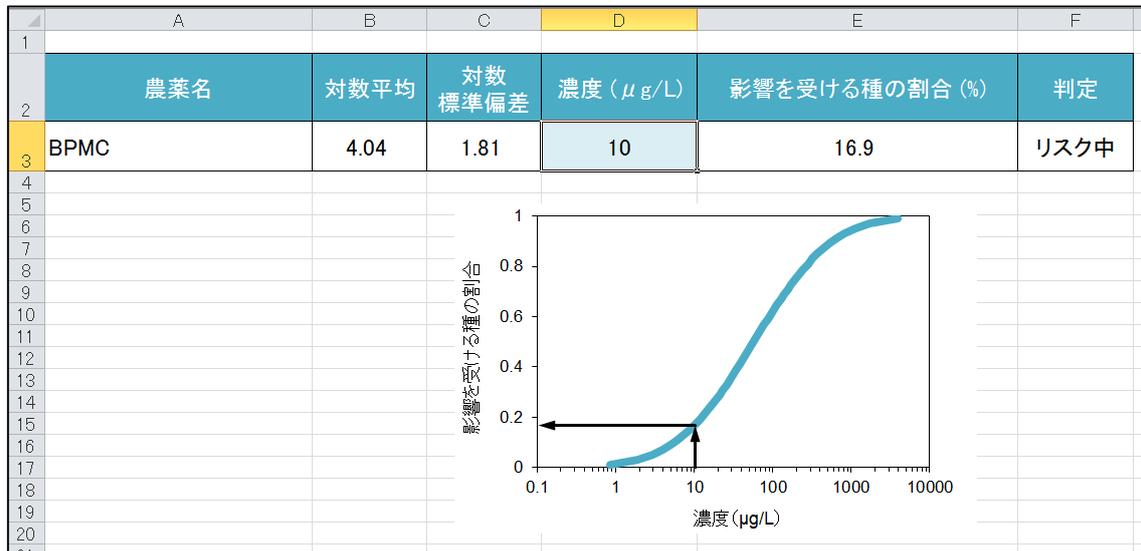


図 20. Microsoft Excel を用いた「影響を受ける種の割合」の計算

次に、河川水中農薬モニタリングデータを活用した事例を紹介する。Iwafune ら (2010) が行った、茨城県桜川における 2007 年の水稻一作期を通した各種農薬濃度のモニタリング結果の一部を図 21 (A) に示す。これらの除草剤の SSD 解析結果から、各濃度に対応する影響を受ける種の割合を計算すると、図 21 (B) のような結果となる。イマゾスルフロンによる影響を受ける種の割合は最大で 3.5% (リスク低)、それ以外の農薬のリスクは検出限界以下となった。河川水中農薬のモニタリング研究を行う際には、単に濃度を報告するだけでは無く、このような計算も交えることでその意味をより深く考えることが可能となる。

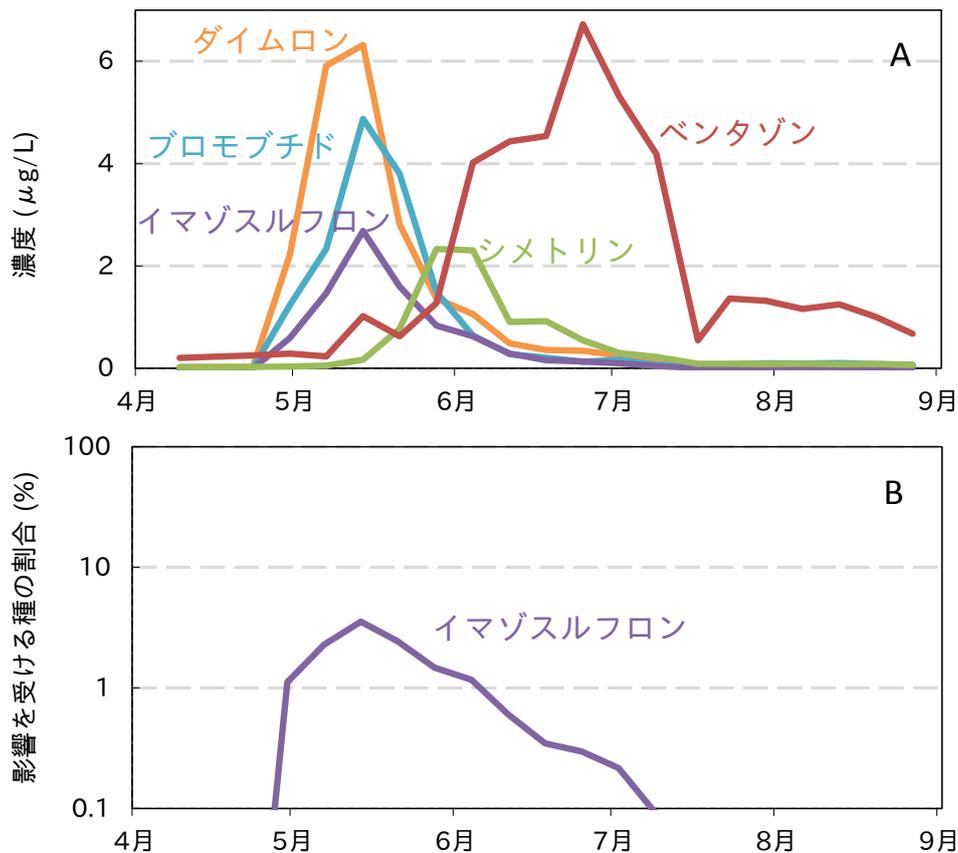


図 21. 2007 年の茨城県桜川における各種除草剤の濃度変化 (A) と、そこから計算した影響を受ける種の割合の経時変化 (B)。B のグラフではイマゾスルフロン以外は検出限界 (0.1%) 以下となった。

◆ 確率論的リスク評価 (毒性も曝露も分布を使用)

1.1.節や図 1 で示したように、確率論的リスク評価では毒性側だけで分布を使用しても片手落ちとなり、曝露側の分布も合わせて示すことが望ましい。SSD は生物種間の感受性差を表現したものであるが、PEC の方も地域毎に差があり、これを分布として表現できる。この曝露と毒性の両者の変動性を定量化してリスクを確率として表現する確率論的リスク評価が、北米における除草剤アトラジンの生態リスク評価 (Solomon et al. 1996) や、様々な農薬の生態リスク評価で応用されている (除草剤ジクワットの例 Ritter et al. 2000; Campbell et al. 2000、殺虫剤ダイアジノンの例 Giddings et al. 2000、ピレスロイド系殺虫剤群の例 Solomon et al. 2001; Giddings et al. 2001; Hendley et al. 2001; Travis and Hendley 2001; Maund et al. 2001、殺虫剤アルディカルブの例 Moore et al. 2009)。これらのリスク評価では、任意の割合の種が影響を受ける確率としてリスクが定量化される。

永井ら (2008) は、除草剤シメトリンの河川水中濃度の予測分布と感受性の分布 (SSD) から、確率論的生態リスク評価を行った。PEC 算定に用いるパラメータの日本全国的な地域変動を確率分布として表現し、モンテカルロシミュレーションを用いて PEC の取りうる全国的ばらつきを解析した。その結果を対数正規分布として表現し、PEC の超過確率を

(1-PEC の累積確率密度) で求めた。それを SSD と重ね合わせた場合に、二つの曲線の重なる部分の大きさがリスクの大きさとなる (図 22 左)。そして、ある割合の種が影響を受ける濃度レベルの超過確率を Joint Probability Curve (リスクカーブ) として表した (EUFRAM 2006)。さらに、リスクカーブ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) とした (図 22 右)。ここでの EPAF は全国平均的にどの程度の割合の種が影響を受けるか、という生態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。図 22 右の例では、5%の種が影響を受ける確率は 1.5%、(98.5%の地域で影響を受ける種の割合が 5%以下)、50%の種が影響を受ける確率は 0.1%以下などと計算される。また、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。

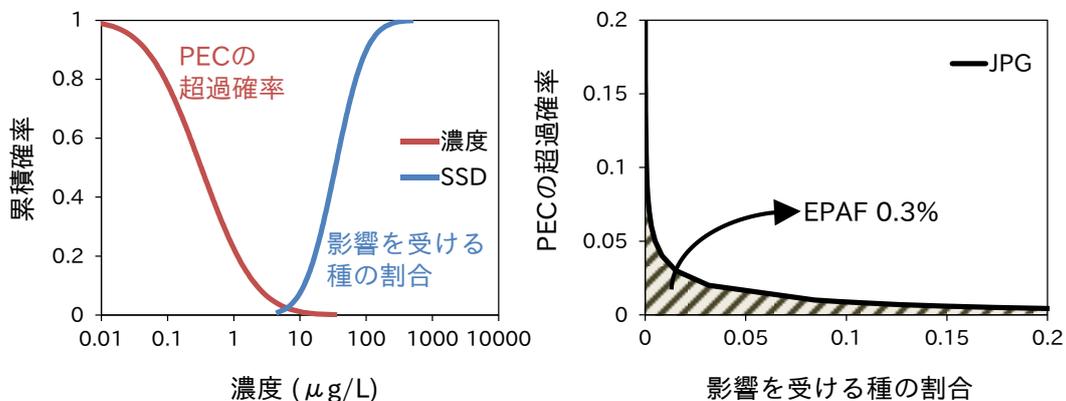


図 22. 除草剤シメトリンを例にした、PEC の超過確率と SSD の比較 (左) とリスクカーブ (右)

永井ら (2011) は、2005 年ベースの普及率等の情報を用いて、上記の方法により 11 種類の除草剤の EPAF を計算して比較した (図 23)。このように生態リスクを EPAF で表現することで、農薬毎のリスクを定量的に比較可能となる。

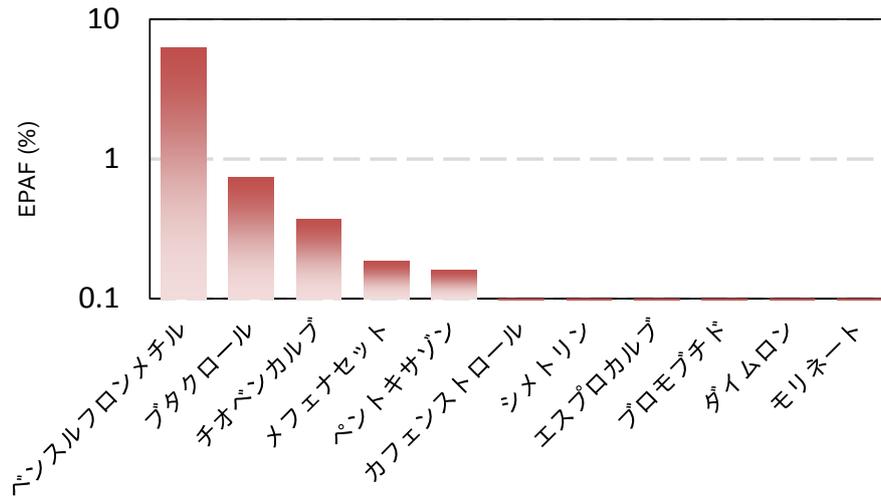


図 23. 11 種類の除草剤の EPAF

EPAF を Microsoft Excel を用いて計算する場合には、図 24 のようなシートを作成して値を入力する（詳細は 6.2.節付録を参照）。入力するパラメータは、SSD のパラメータ二つ（対数平均 ln Mean と対数標準偏差 ln SD: 表 4~6 を参照）と濃度分布（対数正規分布を仮定する）のパラメータ二つ（対数平均 ln Mean と対数標準偏差 ln SD）である。

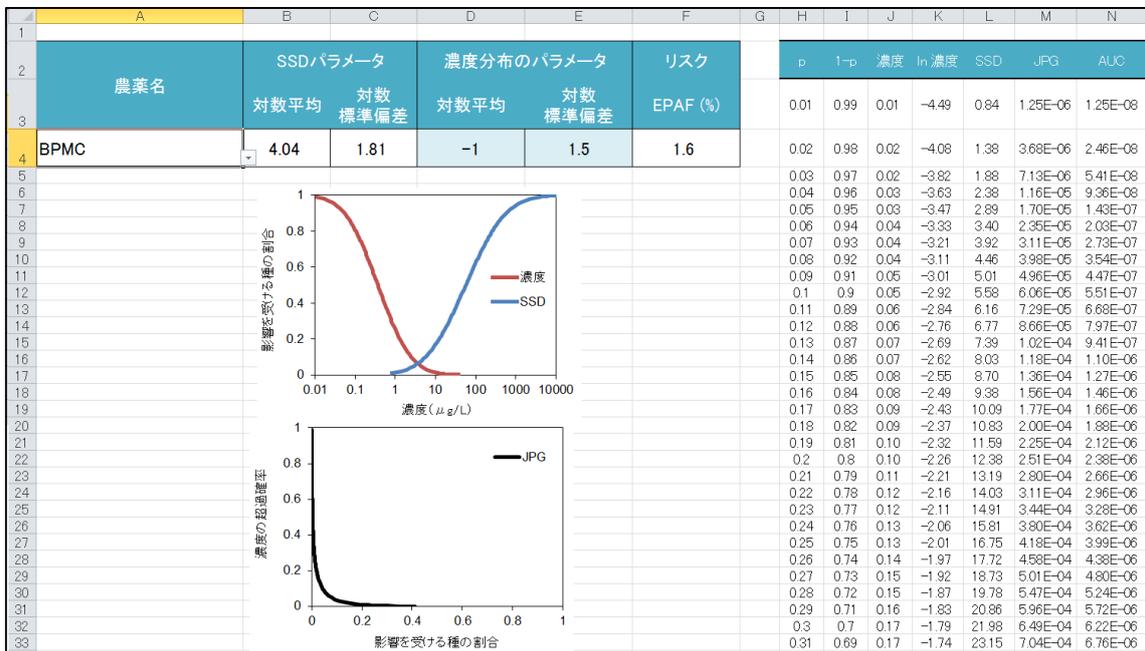


図 24. Microsoft Excel を用いたリスクカーブと EPAF の計算