

複数農薬のミクスチャー環境下における生態リスクの評価法

農研機構 農業環境変動研究センター

永井 孝志

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が同時に検出されている (Iwafune *et al.* 2010)。一つ一つの農薬が安全と評価されていても、このような複数農薬のミクスチャー環境下ではどうなるか、という懸念はぬぐえていない。諸外国ではミクスチャー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。

米国や欧州では農薬の健康影響に関する複合影響の検討は比較的進んでいる状況である (化学物質評価研究機構 2013)。米国の Food Quality Protection Act (食品品質保護法) では、同一の作用機作を有する農薬の累積リスク評価 (Cumulative Risk Assessment の訳) が要求され、5つの農薬グループ (有機リン系、トリアジン系、酸アミド系、カーバメート系、ピレスロイド系) のそれぞれについての累積リスク評価が2001年か

ら2011年にかけて実施された。一方欧州では、2009年の欧州理事会決定により、将来のリスク評価において化学物質の複合影響の考慮が必要とされることになった。これを受けて欧州委員会では、複合影響評価に関する現状や課題の解析を行っている。また、European Food Safety Authority では、農薬の残留基準の設定に複合影響を考慮するための手法論の検討が続いている (EFSA 2008)。

化学物質の生態影響においては、米国等で活用されている全排水毒性 (Whole Effluent Toxicity, WET) が主な評価手法である。これは、様々な化学物質の混合物である排水そのものを使ったバイオアッセイ (WET 試験) に基づいて排水管理を行うものである。他にも複合影響に関する研究例は多数あるものの、主に2種類の化学物質の混合曝露下において、相乗効果や拮抗効果が見られるかどうかを調べた研究が多い。そこから先のリスク評価や管理に複合影響をどのように実装するか、というところまでは議論があまり進んでいない。本稿では、農薬の複合影響を考慮した生態リスク評価手法について紹介する。

1. 化学物質の複合影響の評価方法

複合影響を予測するモデルとして主なものに Concentration Addition モデル (CA モデル) と、Independent Action モデル (IA モデル) がある (de

Zwart 2005)。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、ダイオキシン類の毒性等量や水道水の水質管理目標設定項目で採用されている総農薬方式を計算する方法と同様の概念である。このモデルは作用機作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、影響を受けなかった割合を乗算していく方法であり (相乗効果とは異なる)、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。これらのモデルについては、これまでに多くの実験的な検証が行われている。例えば、緑藻を用いた生長阻害試験において、18種類のトリアジン系除草剤 (作用機作は光合成の光化学系 II 阻害) を阻害率1%の各濃度で混合した結果、47%の増殖阻害率が得られた。そして、CA モデルによる予測では44%、IA モデルによる予測では17%と、CA モデルによる予測とほぼ一致していた (Faust *et al.* 2001)。同様に、16種類の作用機作の異なる薬剤を阻害率1%の各濃度で混合した結果、18%の阻害率が得られた。そして、CA モデルによる予測では75%、IA モデルによる予測では15%と、IA モデルによる予測とほぼ一致していた (Faust *et al.* 2003)。他にも多数の複合毒性試験をレビューした研究が報告されている (Belden *et al.* 2007)。

上記の CA, IA モデルは元々単独種

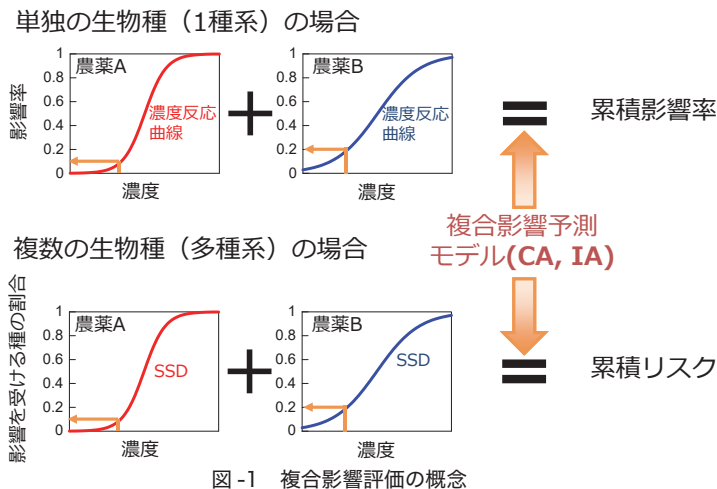


図-1 複合影響評価の概念

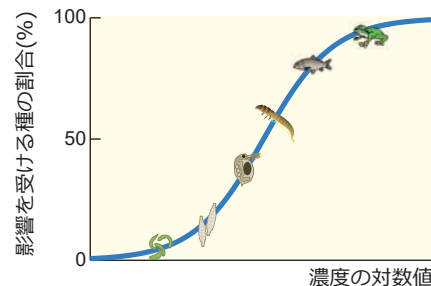


図-2 種の感受性分布の概念図
6種の生物を農業によって影響を受けやすい順番に並べ、それぞれの種の毒性値に従って対数正規分布曲線に適合させた例を示す（注：この図はあくまで概念的な説明であり、生物種に対する感受性の順序は農業の作用機作などにより大きく変化する）。

に対する毒性の予測手法である（図-1 上段）。しかしながら、生態リスク評価は単独種への毒性をベースに行うものではなく、あくまで生態系・生物群集をターゲットとするものである。そこで有用な概念が種の感受性分布（Species Sensitivity Distribution, SSD）である（Posthuma *et al.* 2002）。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-2のように累積確率分布で表現できる。つまり、一定以上の種数（例えば OECD のガイドランスでは5種以上）の毒性データが揃っていれば、環境中濃度と影響を受ける種の割合の関係を推定して表現できることになる。これが種の感受性分布の基本的な考え方である。すなわち、種レベルの影響から生物群集レベルの影響を予測（外挿）するモデルと捉えることもできる。SSD法は生態系への影響を濃度との関数として表すことができるので、定量的なリスク評価方法として活用できる。農業の濃度がわかると影響を受ける種の割合が計算でき、この指標は生物多様性（種の多様性）にどれだけ影響があるか、という定量的な「生物多様性影響度指標」として位置づけることができる。詳しくは日本語で記載された技術マニュアルが公開されているため、そちらを参

照願したい（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）。

SSDの活用については、2012年に本誌に掲載された筆者による解説記事（永井 2012）を参照願いたい。近年推進されている環境保全型農業では、農業の使用回数を指標としてこれを低減する努力がなされているが、本来は低減の対象は「農業使用」ではなく、農業使用に伴う「生態リスク」でなければならない。そこで、SSDを用いて農業使用による生態リスクを防除体系毎に定量的に比較できるような新しいリスク評価手法を紹介した。ただし、その時点では複数農業の複合影響を考慮したものとはなっていなかった。CA、IAの複合影響モデルは、SSDにも同様に適用することができる。それぞれの物質のSSDを濃度反応関係曲線と見なし、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-1 下段）。これを複数物質による累積リスクとみなす。多種類の農業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-3は例として

6つの農業の混合下を想定し、農業 a, b, cが作用機作1、農業 d, eが作用機作2、農業 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の農業 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の農業 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} と農業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。

複数農業のミクスチャー環境では、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ただけの加算的以下の影響になってしまう拮抗効果の発生も懸念される。CAモデルやIAモデルは、基本的にそのような相互作用を想定していない。この想定の下での複合影響の予測は妥当かという疑問も当然でてくるが、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-4）。混合の物質数が少ない場合、相乗もしくは拮抗効果によって、加算的モデルによる予測からの解離が大きい

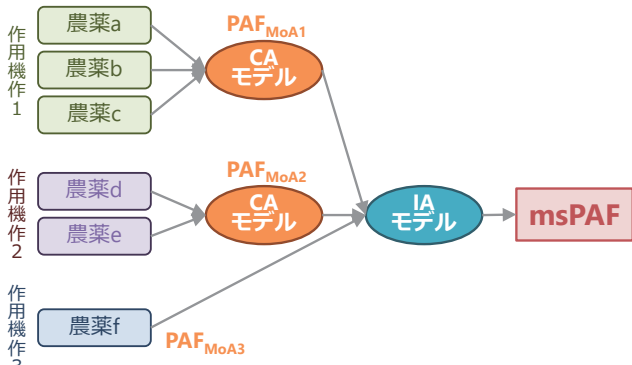


図-3 CA-IA 混合モデルによる累積リスクの計算

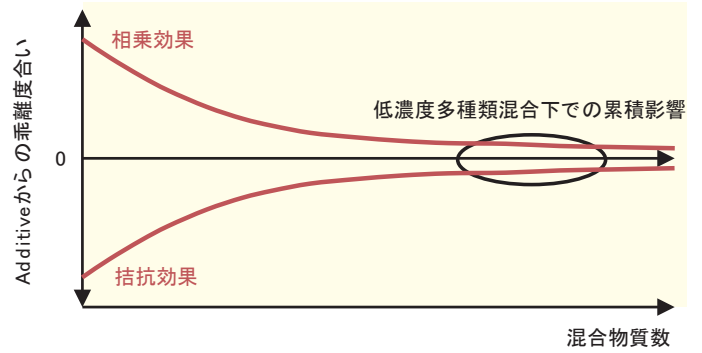


図-4 ファンネル仮説の概念図

ケースが多数出てくる(図-4の左側)。ところが、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ように見える(図-4右側)。この図-4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、全てファンネル仮説の下で加算的に計算できる方が効率的かつ実用的である。

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、バ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パーセントイルの濃度(HC5、HC10、HC20)で混合する3つの実験区を設定した。5種類の藻類(*Pseudanabaena galeata*, *Desmodesmus subspicatus*, *Achnanthydium minutissimum*, *Nitzschia palea*, *Navicula pelliculosa*)を用いた

毒性試験はすでに公開されている試験マニュアル(独立行政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2014)に基づいて行った。このときのコントロール区の増殖速度を1とした場合のそれぞれの藻類の比増殖速度を図-5に示す。比増殖速度が0.5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-6の棒グラフ)。

この実験結果と、5種類の除草剤の個別のSSDと曝露濃度から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-6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

2. SSD- 複合影響モデルの実験的検証

生物1種系(図-1上段)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(図-1下段)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)。

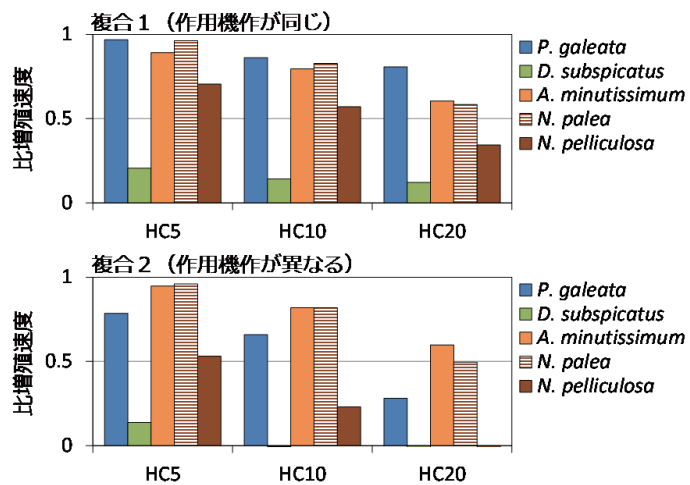


図-5 複合毒性試験における各種の比増殖速度

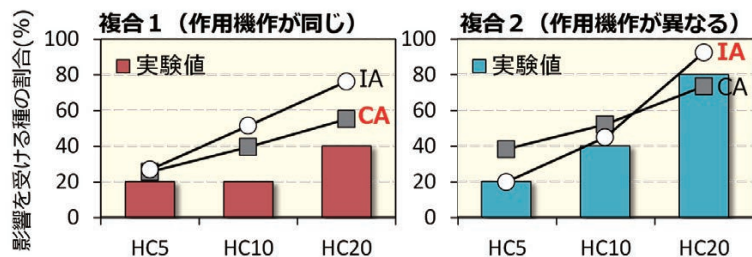


図-6 複合毒性試験結果とモデル予測の比較

好であった(図-6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、SSDと複合影響モデルを組み合わせた累積リスク評価法の妥当性を示すものである。

3. 複数農薬の累積的生態リスク評価ツール NIAES-CERAP

これまで、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(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)。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、CA、IA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

	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_MoA
5	除草剤	ベンスルフロメチル	B	5.27	3.84	3.430	0.034	0.000	0.001	0.024
6		イマゾスルフロ	B	6.70	3.16		0.181	0.000		
7		ピラゾスルフロエチル	B	4.44	3.48		0.040	0.000		
8		シクロスルファミロン	B	5.91	4.36		0.010	0.000		
9		プロピリスルフロ	B	7.29	2.79		0.056	0.000		
10		ピリミルスルファン	B	6.07	2.95		0.075	0.000		
11		ピリミノバクメチル	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		ベンタゾ	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	E	4.20	2.85	3.135	0.245	0.004	0.006	0.053
16		ベントキサゾ	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		テフリルトリオン	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		プレチラクロール	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		インダノファン	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		ベンフレセート	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-7 NIAES-CERAPを用いた除草剤33剤の累積リスクの計算例

ク評価ツール: NIAES-CERAP (Institute for Agro-Environmental Sciences, NARO-Cumulative Ecological Risk Assessment of Pesticides)」である (https://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/pub2016_or_later/laboratory/niaes/manual/079666.html からダウンロード可能)。本ツールは Microsoft Excel をベースとしており (図-7)、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。主な水稲用農薬 68 種の 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。

4. 今後の展望

SSD と複合影響モデルの統合により、複数の農薬使用からなる防除体系毎の定量的なリスクの比較が可能となる。これにより、「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」などの管理対策を行った場合のリスク低減効果を事前に定量的に評価して、効率的な管理対策を選択できるようになる。また、河川水などの環境中農薬濃度のモニタリングは各地で行われているが、個別の農薬濃度の基準値との比較のみでなく、農薬全体としてのリスクの大きさを定量的に把握できるようになる。例えば、過去に比べて農薬全体のリスクが減少してきていることを明示する根拠となりうるだろう。

ただし上記の手法は、過去と現在、地点同士、防除体系間のリスク比較など、相対的な比較には有用であるものの、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ろのか? 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。ここで計算した累積リスクの妥当性の検証のため、野外生物調査を行い計算結果と比較を行っていくことが今後の重要な課題となろう。しかし、実際の野外生態系では農薬以外の様々な影響も同時に受けるため、この検証は単純ではない。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。このように、単独の農薬の影響→複数の農薬による複合影響→農薬以外の影響も考慮、という順番で、シングルストレスからマルチストレスの世界へと研究を進化させていく必要があるだろう。

参考文献

- Belden, J.B, *et al.* 2007. How well can we predict the toxicity of pesticide mixtures to aquatic life? *Integr. Environ. Assess. Manag.* 3, 364-372.
- EFSA 2008. Opinion of the Scientific Panel on Plant Protection products and their Residues to evaluate the suitability of existing methodologies and, if appropriate, the identification of new approaches to assess cumulative and synergistic risks from pesticides to human health with a view to set MRLs for those pesticides in the frame of Regulation (EC) 396/2005. *EFSA J.* 704, 1-84.
- Faust, M. *et al.* 2001. Predicting the joint algal toxicity of multicomponent s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants. *Aquat. Toxicol.* 56, 13-32.
- Faust, M. *et al.* 2003. Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. *Aquat. Toxicol.* 63, 43-63.
- de Zwart, Posthuma L. 2005. Complex mixture toxicity for single species and multiple species: proposed methodologies. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 2665-2676.
- 独立行政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 2014. 河川付着藻類を用いた農薬の毒性試験マニュアル Ver. 1.0.
- 一般社団法人化学物質評価研究機構 2013. 平成 24 年度化学物質複合影響評価手法検討調査業務報告書.
- Iwafune, T. *et al.* 2010. Behaviour of paddy pesticides and major metabolites in the Sakura River, Ibaraki, Japan. *J. Pestic. Sci.* 35, 114-123.
- 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.

永井孝志 2012. 環境保全型農業と除草剤(農業)の新たな生態リスク評価法. 植調 45, 451-459.

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. 日本農業学会誌 42, 133-137.

Nagai, T. 2016. Ecological effect assessment of 68 pesticides used in

Japanese paddy field using species sensitivity distribution. J. Pestic. Sci. 41, 63-14.

Nagai, T. 2017. Predicting herbicide mixture effects on multiple algal species using mixture toxicity models. Environ. Toxicol. Chem. 36, 2624-2630.

Posthuma, L. *et al.* 2002. Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology (Environmental and Ecological Risk

Assessment), Lewis Publishers, CRC Press.

Warne, M.S.J. and Hawker, D.W. 1995. The number of components in a mixture determines whether synergistic and antagonistic or additive toxicity predominate: The funnel hypothesis. Ecotox. Environ. Saf. 31, 23-28.

田畑の草種

黒慈姑, 葶薺, 鳧苳, 烏芋, 久呂久和為 (クログワイ)

(公財)日本植物調節剤研究協会
兵庫試験地 須藤 健一

単子葉植物カヤツリグサ科ハリイ属の多年生草本。ほとんど細長い花茎だけを伸ばす植物で、湿地に生育する。泥の中に長く地下茎を這わせ、あちこちから花茎を伸ばす。その花茎が真っすぐに立ち上がると一面のクログワイ群落になる。その時の花茎の本数は㎡当たり優に数千本を超える。花茎の断面は丸くて中空、各所に隔壁があり指でしごととプチプチ音がする。種子もつけるが泥の中の地下茎の先に黒っぽい塊茎をつけて増殖し、水田で難防除雑草とされる。

日本の在来種で、万葉の時代には「ゑぐ」と呼ばれ、歌に詠まれた。いずれも作者不詳であるが万葉集に2首。

君がため山田の澤にゑぐ摘むと
雪消の水に裳の裾濡れぬ (巻10)
あしひきの山澤ゑぐを採にゆかむ

日だにも逢はむ母は責むとも (巻11)

この「ゑぐ」、どちらも山田の澤にあるという。今でもクログワイは、平野部に一面に広がる灌排水設備が完備した田より、中山間部の排水の悪い谷地田などの方が多い。歌の「澤」を流れを溜めた「田」と解釈すれば、いずれの歌も愛しい人のために「田」の泥の中にある「ゑぐ」を摘みに行くのですよ、となる。「ゑぐ」の塊茎を食べるために摘むのなら、田はまだクログワイが萌芽してくる前がいい。「雪消」の冷たい水であっても、その方が塊茎はたくさん採れたに違いない。さらには「代掻き」のように泥をかき混ぜた後の方が摘みやすいし、よりたくさん採れる。

時代が少し下がって平安時代になると、宮廷歌人たちは「ゑぐ」に見向きしなくなった。平安期以降の名だたる歌集に「ゑぐ」

は出てこない。それでも探してみると、平安中期の「玉造小町子壮衰書」に、「田黒薦苳」(「田の黒き薦苳」)としてクログワイが出てくる。「壮衰書」は、老いさらばえた小野小町が旅の僧とやり取りする中で昔を偲ぶ漢詩文であるが、その中で、かつて都で一世を風靡した女流歌人である小野小町が、老いさらばえて持っていた食べ物が田で採ってきた「クログワイ」であった、という。

老いた小野小町が持っていたクログワイの塊茎はどのくらいであったのか。万葉人は山田の澤で如何ほどの「ゑぐ」を摘んでいたのか。

筆者は、40年ほど前、京都大原の三千院近くの棚田で、水稲収穫後にクログワイの塊茎採りをしたことがある。50cm×50cmの方形の中をヘラのようなもので掘っていく。クログワイの塊茎が出てくるたびに、方形の縦、横をX軸、Y軸に、深さをZ軸にあてて、その位置を記載していく。「君がため」でも「日だにも逢はむ」ということでもないが、観光客の不思議そうな視線を背中に受けてひたすら掘った経験がある。

今や水田の難防除雑草とされるクログワイである。あちこちの水田で簡単に塊茎は集められると思うが、筆者の植調兵庫試験地の試験圃場、その圃場に隣接する田もクログワイの宝庫である。裳裾を濡らさずとも、代掻きの後、「とんぼ」と呼ばれる整地用のレーキで数回かき集めれば、2,000個や3,000個の塊茎を集めるのは造作ない。それほど見事に、クログワイとイネだけから出来上がっている。おかげで、試験地の圃場もクログワイには事欠かない(笑)。