

# 農薬取締法改正に伴う各種ガイドラインの改正

## 1) 水産動植物（生活環境動植物）への影響試験における実務

一般財団法人残留農薬研究所  
化学部

石母田 誠

### はじめに

水産動植物（生活環境動植物）試験では、環境中の生物に対する農薬の影響を評価し、その安全性を確かめている。農薬取締法改正に伴い水産動植物に対する影響に関する試験の指針（以降、農水指針）が2019年3月より改正となり、そのほとんどがOECD（経済協力開発機構、Organisation for Economic Co-operation and Development）テストガイドライン（OECD TG）に従うこととなった（農林水産省2019）。また、2018年には殺虫剤の作用を有する化合物に対してユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験が追加要求項目となり、2019年の改正では、除草剤および植物成長調整剤についてコウキクサ類生長阻害試験が新たに義務化された。これに加え、国内農薬登録に使用可能な藻類の試験種数が増え、試験生物種数に応じた不確実係数設定の考え方が導入された。さらに、従来の農薬登録基準の設定における生態影響評価は水生生物のみを対象としていたが、ミツバチや鳥類といった陸域の生物へ評価範囲を拡大し、試験名称「水産動植物への影響に関する試験」が「生活環境動植物への影響に関する試験」に変更となった（中央環境審議会土壤農薬部会2019）。以上のとおり、生態毒性関連の国内農薬登録に必要な試験成績は増加傾向にあり、これまで以上に環境中の生物への影響に配慮する必要がある。元来OECD TGと旧農水指針（12

農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知）との間には相違点があったため、改正内容を理解するには知識の体系化が必要である。このような背景から、生活環境動植物関連試験における農水指針の変更点と一般財団法人残留農薬研究所における対応について解説した。

### 1. 魚類急性毒性試験の大幅な改正

農水指針改正後の変更点が多いため、試験として、魚類急性毒性試験が挙げられる。この試験では、魚を複数濃度の被験物質含有試験液に96時間暴露後、死亡個体数を計測し、その致死率から半数致死濃度（ $LC_{50}$ ）を算出する。これまでの試験指針では、国内に生息するコイまたはメダカを試験生物としてきたが、魚類急性毒性試験のOECDテストガイドライン（OECD TG 203）における推奨種の使用が国内でも認められたことで、海外における農薬登録の際に多く使用されているゼブラフィッシュ等の試験成績を国内農薬登録にも使用できることとなった（OECD 2019）。また、OECD TG 203自体も2019年6月に改正となり、OECD TGの試験魚種として新たにマダイなどの海産魚および汽水魚が追加された。海産魚の日本導入については現段階では検討段階とのことだが（山本2019）、将来的には海水域への農薬流出も視野に入れた毒性評価が求められる可能性も示唆されている。

次に、OECD TG改正に伴う実験条件の変更箇所を説明する。まず、試験魚の体サイズや暴露時の密度の変更についてである。例えばコイを使用する場合、以前は規定サイズ $4 \pm 2\text{cm}$ （ $2 \sim 6\text{cm}$ ）であったが、 $3 \pm 1\text{cm}$ （ $2 \sim 4\text{cm}$ ）と少し小さくなった。一般的には、体サイズが小さいほど化学物質に対する水生生物の感受性は高くなる傾向があり、その理由の一つとして、小さい個体の方が体積に占める表面積の割合が大きく、大きな個体と比べて、生物体内へ化学物質の蓄積量が高くなることが報告されている（Cadmus *et al.* 2020; Verheyen and Stoks 2019）。農水指針改正前後の魚体サイズ差はわずかかもしれないが、その感受性差には注意する必要があると思われる。また、暴露溶液当たりの試験魚の体重の基準が変更となった（例えば、止水式および半止水式の場合、1gの試験魚/暴露溶液1L未満が0.8gの試験魚/暴露溶液1L未満に変更）。これにより、魚体重が重い場合、その分だけ試験液量を増やすなどの調整が必要となった。

さらに、水質測定項目も大きく追加され、暴露実験に用いる希釈水についてTOC（全有機炭素）濃度またはCOD（化学的酸素要求量）のうちいずれかと、残留塩素濃度および硝酸態窒素濃度等の測定が必要になり、それぞれの基準値も設けられた。これに加え、実験中の照度の範囲（ $10 - 20 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ,  $540 - 1000 \text{ lux}$ ）も規定され、これまで以上に水質や実験環境の変動への配慮が求められることとなった。



図-1 試験魚 (コイ, *Cyprinus carpio*) の水槽とその隠れ家

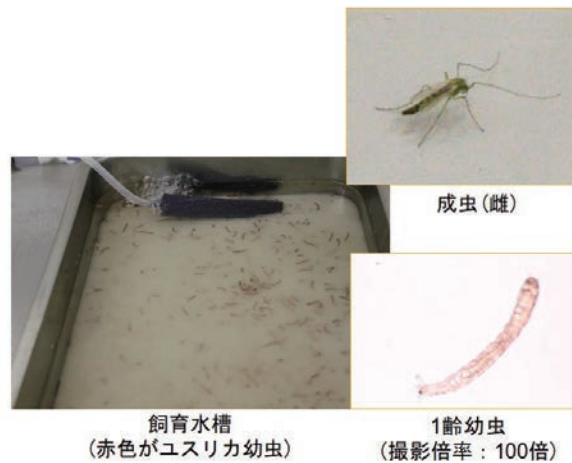


図-2 セスジユスリカ (*Chironomus yoshimastui*)

最後に、改正後の試験では、試験魚を倫理的に扱うことが明記された点を取り上げる。改正後のガイドライン冒頭において、魚を用いた暴露実験をできるだけ行わない、または個体数の削減に努めるよう求められている。さらに、飼育中の魚が瀕死状態になった場合、麻酔薬を用いて安楽殺することなども求められる。安楽殺を実行する場合、不安を伴わない最小限の痛みや苦痛で意識の喪失と死を誘導する必要がある (AVMA 2020)。実際、哺乳類 (マウスなど) の急性経口毒性試験では、死亡が影響の判断基準 (エンドポイント) であるが、瀕死は死亡と同じ状態とみなし、安楽殺することとなっている (OECD 2002)。魚類急性毒性試験の影響判定基準は死亡であるが、今回の OECD TG 改正の際、瀕死状態をエンドポイントとするか否かの議論があったと聞いている (山本 2019)。よって、今後の魚類急性毒性試験のエンドポイント動向に注目する必要がある。当研究所は AAALAC (国際実験動物管理公認協会) 認証施設であるため、ガイドライン改正を問わず、従来より動物倫理に配慮した魚類試験に取り組んできた。魚類を含む動物を用いた実験を実施する際には、まず動物実験委員会がその実験計画を審査し、倫理上適切な実験が行われていることを

確認のうえ実験実施が承認される。また、魚類の飼育中においても実験生物の環境や健康に配慮する必要がある、水槽内に隠れ家の設置 (図-1)、毎日の試験魚の観察や、残留塩素や溶存酸素濃度といった水質の定期的な測定が必要とされる。このように、常に実験動物の視点に立って、良好な飼育環境作りに努めている。

## 2. ユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験の導入

これまでは、ミジンコ類急性遊泳阻害試験 (OECD 2004) を用いて、殺虫剤の影響を十分評価できると考えられてきたが、剤によって水生昆虫とミジンコとでは感受性差がかなりあることが判明し、十分に評価できていない可能性が指摘された (中央環境審議会土壌農業部会農業小委員会 2016)。例えば、コガタシマトビケラ (水生昆虫) のネオニコチノイド系殺虫剤に対する感受性は、ガイドライン種であるオオミジンコの 1,000 ~ 100,000 倍以上も高いことが分かっている (横山 2011)。このことから殺虫作用を有する化合物を対象に OECD TG で方法が確立されていたユスリカ幼虫遊泳阻害試験 (OECD 2011b) が義務化された。ただし、必ずしもすべての殺虫

剤に対して、ユスリカの方がミジンコよりも高感受性という訳ではない。ユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験はネオニコチノイド系や昆虫成長阻害剤に対しては高感受性であるが、有機リン系、カーバメート系への感受性は低い傾向にある (Rubach *et al.* 2010)。一方、ミジンコ類急性遊泳阻害試験は有機リン系、カーバメート系、ピレスロイド系の農薬に対して高感受性であるが、ネオニコチノイド系や昆虫成長阻害剤 (IGR) に対しては感受性が低い傾向にある (Beketov and Liess 2008; Brock and Wijngaarden 2012)。よって、ミジンコおよびユスリカ幼虫急性遊泳阻害の感度は、殺虫剤の作用機構に大きく依存していると考えられる。

日本国内で入手できるユスリカのガイドライン種は、国立開発法人国立環境研究所 (以降、国立環境研究所) が有償分譲しているセスジユスリカ (*Chironomus yoshimastui*) である (国立開発法人国立環境研究所 2020)。セスジユスリカは国内の河川や排水、水田などに生息しており、緩やかな流水を好む (菅谷 1997)。また、23°C の培養環境下では生後約 2 ~ 3 週間間後に羽化が始まり、交尾後、卵塊を産む (図-2)。このように交尾の時期が限られているため、遊泳阻害試験に用いる 1 齢幼虫 (齢は頭幅で判断、孵化

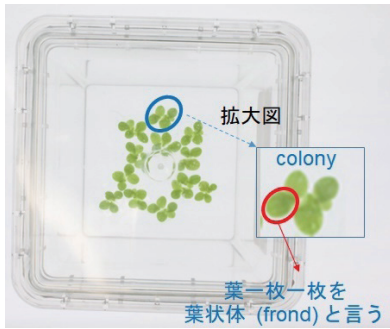


図-3 コウキクサ (*Lemna minor*) の葉状体

後約 48 時間以内のもの) を継続的に入手するには、ある程度数を齢別に飼育しておく必要がある。ユスリカ幼虫遊泳阻害試験における被験物質の暴露方法は、ピーカーに被験物質を添加した試験液を入れ、そこにセスジユスリカを曝して、暴露 48 時間後の遊泳阻害を観察するというものである。この実験で注意を要するところは、ユスリカは体重が軽く、よく体を動かすので、浮力に負けて農薬暴露実験中に水面上に浮いてしまう点である。浮いてしまったユスリカは遊泳阻害個体として扱われるため、農薬影響の判定が困難になる。そのため、パラフィルムを水面上に乗せるなどの対策が必要である。セスジユスリカは本来湖沼の底質などに生息し、泥や緑藻などを使って栄養するため(田原 1985)、掴まるところのない実験条件(ピーカーに試験液のみ入れた条件)がこのような現象を引き起こしていると推察される。

### 3. コウキクサ類生長阻害試験の導入・藻類生長阻害試験の試験種増加

2019 年の農水指針改正では、除草剤および植物成長調整剤についてコウキクサ類生長阻害試験(OECD 2006)が義務化された(中央環境審議会土壤農薬部会・2019)。当所ではガイドライン種である *Lemna minor* を国立環境研究所から購入し、実験施設内で飼育している(図-3)。コウキクサは、週

に 3 回ほど換水が必要であるミジンコなどと異なり、頻繁に水替える必要がなく、飼育の手間が比較的少ない。一方、十分な光を照射し、対数増殖期に入ってから実験に使用する点や、雑菌混入防止のため器具の滅菌が必須である点は、藻類生長阻害試験と同程度の作業量を要する。コウキクサの葉状体(frond、葉の 1 枚 1 枚を意味する)は通常、集合体(colony)を作り、葉状体と根だけで構成されている(図-3)。また、葉状体の裏の両側にポケット状の生長点を持ち、そこで新しい子孫の葉状体を作り、枝分れのようにして生長し、やがて分離・独立する(那須 1983)。コウキクサ類生長阻害試験では葉状体枚数、重量(湿重量または乾燥重量)および面積値の三つのパラメーターが主な測定項目である。これらを用いて被験物質暴露 7 日後の  $ErC_{50}$  等を算出する(OECD TG 221 では、藻類生長阻害試験(OECD TG 201)と同様に、 $EyC_{50}$  なども必要)。三つのパラメーターの内、葉状体枚数は測定必須項目であり、葉状体重量および葉状体面積値については、少なくともどちらか一方を測定する。著者らは画像処理ソフト(Image J/ Fiji, 米国・国立衛生研究所)を使用して、葉状体枚数および葉状体面積値の測定を行っている。このソフトは、植物の葉面積を測定する際に、使用されており(濱田・白石 2020)、国立環境研究所の第 14 回生態影響試験実習セミナー(2019)でも紹介があった。葉状体面積値を計測する際、影やピーカー

の縁といった葉状体以外の部分を、面積として評価しないよう、計測条件を適切に設定する工夫が必要である。コウキクサ類生長阻害試験の試験基準は、対照区の倍化時間(コウキクサの葉状体が 2 倍になるために要する時間)が 2.5 日未満であり、これを達成するためには、藻類生長阻害試験の照度(4,440 ~ 8,880 lux)よりも大きな照度(6,500 ~ 10,000 lux)を必要とする。

藻類生長阻害試験では、これまでの試験生物である緑藻類、ムレミカヅキモ(*Raphidocelis subcapitata*)に加えて、珪藻類および藍藻類も試験生物として追加され、藻類・シアノバクテリア生長阻害試験と名称が変更となった。農薬の登録基準値は、各試験で求めた半数影響濃度を不確実係数で除して算出する(中央環境審議会土壤農薬部会 2019)。これまで藻類生長阻害試験の不確実係数は「1」であったが、同じ水域生態系の一時生産者である珪藻類や藍藻類、水草間で農薬に対する感受性に大きな差があることが示されたことから、試験生物種数に応じて、不確実係数が 1 ~ 10 の間で変動する仕組み[試験生物種が 1 ~ 2 種(不確実係数 10)、3 種(4)、4 種(3)、5 種(1)、ただし、ムレミカヅキモの試験成績は必須]が導入された(中央環境審議会土壤農薬部会 2019; 農林水産省 2019)。

OECD TG における藻類またはコウキクサ類生長阻害試験の算出パラメーターは複数あるが( $E_rC_x$ ,  $E_yC_x$ ,

無影響濃度 (NOEC: Non observed effect concentration), 最小影響濃度 (LOEC: Lowest Observed Effect Concentration)), 農水指針では  $E_1C_{50}$  が評価基準であることが明記されている。ただし、海外での農薬登録を考えると、全てのパラメーター ( $E_1C_x$ ,  $E_yC_x$ , NOEC, LOEC) を念のため算出することが望ましい。ここで、 $E_1C_x$  ( $x$  には影響率, 例えば 10, 20, 50% といった数値が入る) は藻類の生長速度の阻害率から算出するパラメーターで、 $E_yC_x$  は藻類の収量 (暴露開始時と比較して、暴露実験中に増殖した藻類の量) の阻害率から算出するパラメーターである (OECD 2011a)。LOEC や NOEC は試験デザインによって任意に決定された濃度区設定に依存するなどの理由から、その使用について世界レベルでの論争が繰り返されている (岩崎ら 2013)。それらの代替パラメーターとして  $EC_{10}$  や  $EC_{20}$  が提案されているが、おそらく過去の背景データとの比較が容易などの理由から、LOEC や NOEC はガイドライン試験では今後も算出すべきなのであろう。各国間のテストガイドラインの差異という点では、米国のガイドラインでは暴露時間が 96 時間と OECD (暴露時間 72 時間) と比較して長いだけでなく、生長曲線下の面積値により算出した阻害率より算出する  $E_bC_x$  も要求される (EPA 2012)。以上のように、農薬を登録する国によって、算出パラメーター等が異なるところが、藻類やコウキクサ類生長阻害試験の特徴である。

#### 4. 陸域生物への影響に関する試験

ミツバチが農薬有効成分等に暴露されるおそれがある場合は、ミツバチ (成虫単回) 接触毒性試験が必須となり、またミツバチが農薬の残留した花粉・花蜜を経口的に摂取するおそれがある場合にはミツバチ (成虫単回) 経口毒性試験を行わなくてはならない (農林水産省 2019)。幼虫が花粉・花蜜を食すことで、農薬の経口暴露が想定される場合は、ミツバチ幼虫経口毒性試験も必要であり、おそらく多くの農薬でこれら三つの試験成績が必要となる可能性が高い。これらの試験ではセイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) を使用する。さらに、ミツバチ (成虫単回) 経口毒性試験で算出した  $LD_{50}$  値 (半数致死量) と推定暴露量 (ミツバチが暴露される農薬の量) との比率 (推定暴露量/ $LD_{50}$  値) が一定の基準値 (0.04) を超える場合、ミツバチ成虫反復経口毒性試験が課せられる。また、それぞれのミツバチ毒性試験における毒性値と推定暴露量との比が 0.4 を超える場合、蜂群への影響を評価する半野外試験が課せられる。半野外試験の一つに OECD ガイダンス No.75 のトンネル試験 (OECD 2014) が挙げられるが、この試験は実験開始から 28 日間以上かかる長期試験であり、広大な敷地を必要とする。すなわち、最低条件として、 $40 \text{ m}^2$  (面積)  $\times$  2.5 m (高さ) のトンネルを少なくと

も 9 施設ける敷地が必要である (無処理対照区, 陽性対照区, 薬剤処理区の 3 試験区, 各試験区の繰り返し回数: 3 回以上)。実験前に、トンネル内に蜂の入れた巣箱とハチが好む花畑 (*Phacelia tanacetifolia* 等を使用), ハチの水飲み場を設置する。花畑に農薬散布後、巣箱内のハチの成長状況と巣箱外における働きバチの採餌行動を主に観察する。ただし、農薬散布は働きバチが活動中に散布する。さらに、暴露開始から 7 日経過後、トンネルから離れた (花畑が周りにない) 場所に巣箱を移動して、巣箱内におけるハチの成長状況をモニターする。野外に巣箱を移す理由は、散布 7 日間でハチが巣箱に持ち帰った花粉・花蜜 (散布した農薬が残留しているかもしれない) の巣への影響を調べるためである。試験結果は、各試験区間における統計的な有意差を以て、判断する。以上のように、半野外試験は相当ダイナミックな試験である。以上のようなセイヨウミツバチを用いた毒性試験の他に、野外の花粉媒介者として有用であるため、野生ハナバチに対する農薬基準値も新たに設定されることとなった (中央環境審議会土壌農薬部会農薬小委員会 2020)。

その他の陸域生物への影響試験の詳細は割愛するが、鳥類が有効成分等に暴露されるおそれがある場合は、鳥類急性経口毒性試験 (OECD Test No. 223, EPA OCSP 850.2100 を参照) も課せられる。

こうした陸生生物の試験を実施でき

る大規模な試験施設は国内には限られているため、当研究所では海外試験機関とも共同的に連携して試験を実施するよう努めている。余談ではあるが、同じ生態毒性試験の分野であっても、対象生物が異なると同一の用語が異なる意味をもつ場合があるので注意を要する。例えば、一般的にミジンコの幼体(仔虫)を英語で「brood」と言うが、ミツバチ試験の場合、「brood」は幼虫だけを示すのではなく、卵、幼虫および蛹の総称のこと(蜂児と言う)である(吐山 1997)。試験モニターを行う際は、ガイドライン等を熟読後、学会等に参加するなどして、各種実験風景を想像できる位に知識を整理しておくことが必要であろう。

## 5. 被験物質の濃度分析

生活環境動植物への影響に係る試験では、基本的に試験液中の被験物質の濃度分析を行い、設定濃度に対する被験物質の回収率、暴露期間中における被験物質濃度の減少を確認する必要がある。特にユスリカ幼虫などは殺虫剤に低濃度で反応する場合も多く、ng/Lオーダーといった低濃度の被験物質を分析する必要がある。このため、難分析となる場合が多い。基本的にはどの生態毒性試験の OECD TG にも「設定濃度に対する被験物質の回収率が 80% 以上であれば、EC<sub>50</sub> (LC<sub>50</sub>) 値等を算出する際に設定濃度を使用できる」と記載されており、農水指針改正後でも EC<sub>50</sub> 値算出の仕組みは従来と

変わらない(藻類生長阻害試験などは止水式で行うため、仕組みは異なる)。なお、その回収率が 80% 未満の場合、EC<sub>50</sub> 値等を算出の際に、暴露期間中における実測濃度の平均値(自然対数平均値など)を用いる必要がある。その他の対応策として、事前に安定性を確認するための調査を実施し、80% 以上の回収率が得られない場合には、換水回数を増やすことなどが考えられる。

生態毒性試験における分析精度などの基準として、ガイダンスドキュメント SANCO/3029/99 rev.4 (以降 SANCO/3029) が参考となる (European Commission Directorate General Health and Consumer Protection, 2000)。SANCO/3029 は EU (欧州連合) 規則において参照すべきガイダンスドキュメントとして取り上げられており、分析媒体ごと(水・土・餌・生物体など)に分析精度や回収率などの基準が提示されている。例えば、水の分析を行う際、被験物質の回収率は 70 ~ 110% (80 ~ 100% が望ましい)、分析のばらつきは相対標準偏差が 20% 以内といったものである。このような基準を達成できるよう、分析技術の向上や分析法の開発に努めている。

## 6. 最後に

農水指針が改正され、OECD TG に従うことが多くなった。欧州の生態毒性試験については、4 段階の Tier 方式 (Tier 1 ~ Tier 4) に従った化学物

質のリスク管理を行っている (EFSA 2013)。Tier 1 では生産者(藻類等)・低次消費者(ミジンコ等)・高次消費者(魚類)を用いた個体レベルでの急性・慢性試験において影響濃度を算出し、安全性が確認されなければ、より高次 (Tier 2 ~ Tier 4) の個体群レベル試験やメソコスム試験(野外におけるモデル生態系試験)などの試験成績が必要になる仕組みである。国内でも長期の毒性試験(例えば、ユスリカ底質毒性試験法やミジンコ繁殖試験)導入の話題は農業資材審議会農薬分科会 (2019) で取り上げられており、引き続き今後の動向を注視する必要があると感じている。

これまでは学会活動等を通じて、大学や研究機関の先生方や専門家の方々から豊富な知識やアイデアを学んできた。しかし、新型コロナウイルスの影響で、あらゆる学会の開催が中止またはオンラインになり (2020 年 12 月現在)、これまでのように気軽にお話をさせて頂く機会がない。このため「今まで以上に積極的に動かなければ、情報が入って来ない」、そんな時代になりつつあると感じている。このようなオンライン時代に戸惑いを感じているが、各学会で導入が始まっている Slack のようなオンラインツールによって (一例: 環境毒性学会 2020)、即日情報が入ってくることも増えるかもしれない。今後は、新たな技術の利用にも目を向ける必要がある。情報の取捨選択を上手に行い、一科学者として何ができるのかを、常に考えて行く

ことが大切である。本原稿で取り上げた改正箇所はほんの一部であるが、少しでも知識整理のお手伝いとなれば幸いである。

## 謝辞

当研究所における生活環境動植物関連試験の発足に際しまして、ご指導頂いた研究機関の皆様には、誠に御礼申し上げます。

## 引用文献

- American Veterinary Medical Association (AVMA). 2020. Guidelines for the euthanasia of animals. 2020. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. <https://www.avma.org/resources-tools/avma-policies/avma-guidelines-euthanasia-animals>
- Beketov MA and Liess M. 2008. Acute and delayed effects of the neonicotinoid insecticide thiacloprid on seven freshwater arthropods. *Environ. Toxicol. Chem.* 27 (2), 461–470. doi: 10.1897/07-322R.1.
- Brock TCM and van Wijngaarden RPA. 2012. Acute toxicity tests with *Daphnia magna*, *Americamysis bahia*, *Chironomus riparius* and *Gammarus pulex* and implications of new EU requirements for the aquatic effect assessment of insecticides. *Environ. Sci. & Pollut. Res* 19 (8), 3610–3618.
- Cadmus, P. *et al.* 2020. Size-Dependent Sensitivity of Aquatic Insects to Metals. *Environ. Sci. Technol.* 54, 955–964.
- 中央環境審議会土壌農薬部会農薬小委員会. 2016. 環境大臣が定める水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定における種の感受性差の取扱いについて (案). <https://www.env.go.jp/council/10dojo/y104-55/siryoku4.pdf>
- 中央環境審議会土壌農薬部会. 2019. 生活環境動植物に係る農薬登録基準の設定について (第一次答申) (平成31年2月7日). <https://www.env.go.jp/press/files/jp/110756.pdf>
- 中央環境審議会土壌農薬部会農薬小委員会. 2020. 農薬の野生ハナバチ類への影響評価ガイダンス. [http://www.acis.famic.go.jp/shinsei/6278/6278\\_2nd.pdf#page=250](http://www.acis.famic.go.jp/shinsei/6278/6278_2nd.pdf#page=250)
- European Commission Directorate General Health and Consumer Protection. 2000. Residues: Guidance for generating and reporting methods of analysis in support of pre-registration data requirements for Annex II (part A, Section 4) and Annex III (part A, Section 5) of Directive 91/414. SANCO/3029/99 rev.4 11/07/00. [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc12.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc12.pdf)
- European Food Safety Authority. (EFSA). 2013. Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2013.3290>
- 濱田 美智雄・白石 美樹夫. 2020. 魚眼レンズを装着したデジタルカメラと画像処理ソフト「Fiji-ImageJ」を用いた生食用ブドウ品種の葉面積指数の推定. *園芸学研究*. 19 (1) 83–88.
- Image J. Fiji. 2020. <https://imagej.net/Fiji/Downloads> (2020.12.7 access).
- 岩崎 雄一ら. 2013. NOEC と LOEC におけるを言うときが来た? *環境毒性学会誌*, 16 (1), 13–19.
- 環境毒性学会. 2020. 環境毒性学会ホームページ. <http://jset.jp/activities/announcement/202010.html> (2020.12.12 access).
- 国立研究開発法人 国立環境研究所. 2020. 研究試料の有償分譲. <https://www.nies.go.jp/kenkyu/yusyuo/index.html> (2020.12.15 access).
- 国立研究開発法人 国立環境研究所. 2019. 国立環境研究所の第14回生態影響試験実習セミナー. [http://www.nies.go.jp/risk\\_health/referencelab/referencelab\\_seminar\\_14.html](http://www.nies.go.jp/risk_health/referencelab/referencelab_seminar_14.html) (2020.12.18 access).
- 那須 裕. 1983. アオウキクサ (*Lemna*) による環境モニタリングの基礎研究 - 重金属のアオウキクサへの吸収と作用について -. *日本衛生学雑誌*. 38 (5) 839–852.
- 農業資材審議会農薬分科会. 2019. 農薬取締法第4条第1項第6号から第9号までに掲げる場合に該当するかどうかの基準の改正について (案) (第19回) 資料. <https://www.maff.go.jp/j/council/sizai/nouyaku/19/attach/pdf/index-5.pdf>
- 農林水産省. 2019. 農薬の登録申請において提出すべき資料について30消安第6278号農林水産省消費・安全局長通知. <http://www.acis.famic.go.jp/shinsei/index.htm> (2020.12.7 access).
- OECD. 2002. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method -. <https://doi.org/10.1787/9789264071001-en>
- OECD. 2004. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Test No. 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test. <https://doi.org/10.1787/9789264069947-en>
- OECD. 2006. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Test No. 221: *Lemna* sp. Growth Inhibition Test. <https://doi.org/10.1787/9789264016194-en>
- OECD. 2011a. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. <https://doi.org/10.1787/9789264069923-en>
- OECD. 2011b. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Test No. 235: *Chironomus* sp., Acute Immobilisation Test. <https://doi.org/10.1787/9789264122383-en>
- OECD. 2014. OECD Series on Testing and Assessment Number 75. Guidance

Document on the Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Brood test Under Semi-field Conditions. <https://doi.org/10.1787/9789264085510-en>.  
 OECD. 2019. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. <https://doi.org/10.1787/9789264069961-en>  
 Rubach MN *et al.* 2010. A new method for ranking mode specific sensitivity of freshwater arthropods to insecticides and its relationship to biological traits. *Environ. Toxicol. Chem.* 29 (2), 476–487.  
 菅谷 芳雄 1997. セスジユスリカ (*Chironomus yoshimatsui*) における殺虫剤感受性の種内

変異. 48 (4), 345–350.  
 田原 雄一郎. 1985. 不快害虫としてのユスリカの化学的防除に関する研究: 1. セスジユスリカ幼虫の各種有機燐剤に対する感受性試験成績. *衛星動物*. 36 (4), 289–294.  
 吐山 豊秋. 1997. 蜜蜂における薬理学的研究. *日本薬理学雑誌*. 110 (4), 183–193.  
 United States Environmental Protection Agency (EPA). 2012. Ecological Effects Test Guidelines. Ecological Effects Test Guidelines OCSP 850.4500: Algal Toxicity.  
 Verheyen, J. and R. Stoks 2019. Shrinking body size and physiology

contribute to geographic variation and the higher toxicity of pesticides in a warming world. *Environ. Sci. Technol.* 53 (19) 11515–11523.

山本 裕史. 2019. 環境省・国立研究開発法人国立環境研究所主催 生態影響に関する化学物質審査規制 / 試験法セミナー配布資料 OECD 試験法に係る最近の動向について. 41–56 pp.

横山 淳史. 2011. 河川水生昆虫に対する農業の影響に関する研究. *日本農業学会誌* 36 (3), 434–439.

くさくさ  
田畑の草種

白詰草・クローバー  
(シロツメクサ)

(公財)日本植物調節剤研究協会  
兵庫試験地 須藤 健一

マメ科シヤジクソウ属の多年草。日本全国の畦畔，路傍，畑，休耕田など里地環境のところでごく普通。背丈は 10cm～20cm，茎は地表を這って長く伸び，節から発根しマット状に広がる。葉は 3 出複葉で表面に斑紋がみられる。葉腋から長い花柄を出し，先端に長さ 1cm ほどの白い蝶形花が 30～100 個集まった球状の頭状花序をつける。

英語名の「クローバー (clover)」は，ローマ神話に登場するヘラクレスが持つ三つのコブのある棍棒が 3 出複葉に似ているということで，棍棒のラテン名である「clava」が「club」，「clover」になったという。トランプのクラブもこれに由来する。一方，和名の「白詰草」は，江戸時代末期の 1846 年，オランダから江戸幕府に献上されたギヤマンの箱に，この草を乾かしたものがクッション材として詰められ，花色が白かったことから名づけられた。

宮沢賢治はこのシロツメクサに対して深い思いを持っていたものとみえる。賢治の童話「ポラーノの広場」では，石英ランプのように明るく，匂い立つようなシロツメクサが幻想的に取り上げられる。そうしてシロツメクサの花影に見える番号を数えていくとポラーノの広場に至るといふ。その中でわたしと

ファゼーロとのやり取り。

『「ああそうだ，わたしも小さいとき何べんも聞いた。野はらのまんなかの祭のあるところだろう。あのつめくさの花の番号を数えて行くというのだらう。』』

『「おや，つめくさのあかりがついたよ。」ファゼーロが叫びました。なるほど向うの黒い草むらのなかに小さな円いぼんぼりのような白いつめくさの花があっちにもこっちにもならび，そこらはむっとした蜂蜜のかおりでいっぱいでした。』

シロツメクサの頭状花序は外側から順に咲き，受粉すると枯れて垂れ下がっていく。しかし最後の花が咲き終わるまで落花することはない。その花を見ながらファゼーロがそれに番号がついている，という。シロツメクサの花が咲き進むとき，これから咲く花と，開花中の花，咲き終わって種を結んだ花，その垂れ下がった花の陰りには 1, 2, ・ ・ という算用数字みたいなものが見え，その数字を 5000 まで数えていった先が伝説の祝祭の広場であるのだという。

春，シロツメクサの花が咲きだしたら，そうしてあたりがとつぷりと暗くなったころ，シロツメクサの青白い明りを見ながら，花の番号を探してみたいと思う。