

農薬の水圏生態系における影響評価について

住友化学(株) 生物環境科学研究所
宮本 貢
田中 仁詞
片木 敏行

Ecotoxicological Risk Assessment of Pesticides in Aquatic Ecosystems

Sumitomo Chemical Co., Ltd.
Environmental Health Science Laboratory
Mitsugu MIYAMOTO
Hitoshi TANAKA
Toshiyuki KATAGI

Ecotoxicological risk assessment of pesticides in aquatic ecosystems has become one of the most important areas of scientific pesticide evaluation. Sumitomo Chemical has been developing many pesticides in order to maintain a stable worldwide food supply, and we have been conducting high quality ecological risk assessments by using state-of-the-art techniques for the evaluation of our pesticides. In this article, the outline of the aquatic ecological risk assessment procedures in Japan, the USA and the EU are briefly summarized and some examples of sophisticated higher-tier ecotoxicological studies undertaken to demonstrate that our pesticides are benign to aquatic environment are introduced.

はじめに

現在および将来にわたる人類の食糧の確保並びに安定供給を目的とし、病害虫や雑草による農作物の被害、収穫低下を防ぐための経済的に有効な防除法として農薬の散布が行われてきた。農薬はその使用対象から大別すると、害虫駆除のための昆虫成長調節剤を含む殺虫剤、ウドンコ病など作物の生育を阻む病原菌を予防、駆除する為の殺菌剤、雑草を除く為の植物成長調節剤を含む除草剤などがあり、それぞれ農作物に対して有害な生物種に対する卓越した生理活性を有している。これらの農薬は、農地である屋外へ意図的に散布することから、農薬の各種病害虫に対する有効性 (benefit) に加え、農業従事者や作物消費者であるヒトでの健康影響や野生生物に対する影響 (risk) に対する安全性の評価が農薬としての有用性判断に必須となってくる。ヒトでの健康確保の観点から哺乳動物を用いた各種毒性試験に基づく安全性評価の歴史は長いですが、昨今では環境保全意識の高まりから、野生生物を含む農薬の環境影響評価が新規農薬の開発や上市農薬の登録維持には必要不可欠となっている。ただ、野生生物の対象は広

く、脊椎動物だけでも哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類というように様々な種類があり、また、その生態も多種多様で生活史自身が不明瞭なものも存在することから、個別の生物種に対する安全性の評価には困難を要する。ところで、圃場で散布された農薬は大気や雨水の移動に伴い各種の代謝分解を受けながら圃場に隣接する河川や湖沼といった水圏に移行することが想定されることから、農薬の水圏生態系での環境影響評価は安全性評価における最も重要な分野の1つとなってきた。これらの水圏生態系に生息する生物種の生態は食物連鎖を介し非常に複雑なものである事、米国五大湖と日本の琵琶湖ではその生息種や生態系が異なるように生態系には顕著な地域性がある事、加えて、各地域の人々の文化、思想、価値観によって守るべき水圏生態系も異なる事などから、画一的な評価が困難な上に、各国における農薬規制当局の評価方法も様々となっているのが現状である。

住友化学(株)は、食の安全・安心を旨とし、食糧の安定生産を目的として様々な農薬を開発・上市しており、その一環として常に最先端の技術を駆使した環境生物に対する安全性評価を行っている。本稿で

は、日本、米国、欧州（EU）における水圏生態系に対する農業の環境影響評価手法について概説した上で、実際の水系環境を模した非常に精緻な系を駆使して当社農業の環境生物に対する安全性を示すことができた最近の具体事例を紹介する。

水圏生態系影響評価

1. 環境影響評価の考え方

環境影響評価の対象である「自然環境」、「生物」の多様性と特徴についてまず述べた上で、対象とする生物がどのように農業もしくは自然環境中で生成する代謝分解物に暴露されるかを知る上で重要な「農業の環境挙動」について概説し、これらを踏まえた基本的な影響評価の考え方について簡単に紹介する。

(1) 自然環境と生物

「水圏」、「陸（土壌）圏」、「大気圏」と大別される自然環境では、互いに複雑に交錯しながら様々な生態系が形成されている。生物多様性条約¹⁾によると、生態系とは、「植物、動物及び微生物の群集とこれらを取り巻く非生物的環境とが相互に作用して一つの機能的な単位を成す動的な複合体をいう」とある。つまり対象とする生態系は、各生物が捕食、被食、競合、寄生、繁殖、分解などといった複雑な相互作用の下に密接に関連しあい、物理的（太陽光、水温など）、化学的（栄養塩、微量金属など）、地理的（気候・地形など）環境要因によって変動する時空間的に変化に富んだものといえる。Fig. 1に示した水圏での生態系ピラミッド構成の模式図の1例からも分かるように、その中では食物連鎖、階層（ピラミッド）構造、物質循環が成立し、藻類などの生産者と甲殻類や魚類と言った多段階の消費者（一次消費者、二次消費者、高次消費者など）、バクテリア等の分解者による捕食、被食、競合などの相互作用が織りなされている。

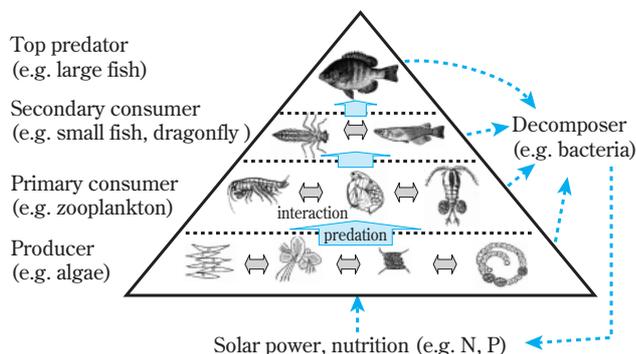


Fig. 1 Typical ecological pyramid in an aquatic community

更に動物だけでも現在の地球上の生物種数は100万種以上²⁾と多く、Table 1の様に詳細な分類がなされているとともに、各生物種の生息地、生活環や生活様式、繁殖戦略も多様である。例えば、繁殖様式では分裂や出芽などによる無性生殖と有性生殖に大別され、更に有性生殖は、雌雄の両性生殖と両性を伴わないミジンコやワムシなどの様な単為生殖に分けることができる。また両性生殖様式においても、カタツムリやミミズのような雌雄同体や我々人間や鳥類、両生類などの様な雌雄異体の様式があり、加えて、一部の魚類では成長や社会的順位などによる性転換が、両生類や爬虫類では孵卵温度による性転換が知られている³⁾ (Table 1)。これらは過酷な自然環境・食物連鎖、つまり様々な生物的・化学的・物理的なストレスの中で種を保存・繁栄させるための戦略であることがうかがえる。

Table 1 Taxonomic classification and variety of reproductive strategies of animals

Taxonomic class	Number of Species	Reproductive Strategy			
		Asexual	Sexual		
			Parthenogenetic	Bisexual Ambisexual	Dieocious
Invertebrate	999954				
Porifera	5000	○	×	○	Minor
Platyhelminthes	15000	○	○	○	×
Nemertinea	750	○	×	Minor	○
Aschelminthes	6985	×	○	×	○
Mollusca	112000	×	×	Minor	○
Annelida	7000	○	○	Minor	○
Tardigrada	280	×	○	×	○
Arthropoda	800000	×	○	○	○
Sipunculoidea	275	×	×	×	○
Hemichordata	100	○	×	×	○
Echinodermata	5970	×	×	×	○
Protochordata	1613	○	×	○	○
Other invertebrates	44981				
Vertebrate	43150	×	Minor	Minor	○

(2) 農業の環境挙動

農地に散布・施用された農業は、とりまく環境要因と農業並びに製剤の有する物理化学的特性によって、Fig. 2に示した模式図のように複雑かつ多岐にわたる環境挙動を示す。

例えば、農業はスプレー散布された場合、その大部分が作物や土壌に到達するものの、ごく一部は空気の流れや拡散により水圏を含む農地周辺環境に飛散（drift）する可能性がある。また、作物や土壌に付着した農業も大気への揮散や、土壌と土壌間隙水の間での吸脱着を繰り返しつつ下方移行（leaching）などにより拡散するとともに、降雨による農地からの

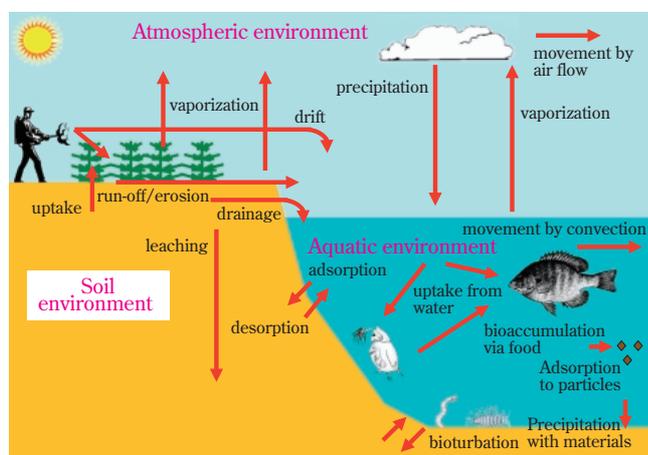


Fig. 2 Environmental fate of pesticides

表面流亡 (run-off/erosion) や排水 (drainage) により環境影響評価の対象となる水系に達しうる。また、水系では、湖沼などの底に堆積した泥や各種生物の死骸からなる底質、藻類、微生物、フミンと呼ばれる溶存有機物や浮遊粘土鉱物などの無機物と水との間の吸脱着により農業の水中濃度は動的に変動していくと考えられる。これらの物質移動とともに、農業は各移行過程で土壤中や自然水中の微生物による生物的分解、加水分解⁴⁾や太陽光による光分解⁵⁾などの化学反応によって代謝・分解される⁶⁾。このように、農業は自然環境中で多様な移行、代謝分解挙動を示し、その1つの重要な媒体が水である事からも水圏における農業動態さらには水圏生態系の影響評価が重要視されることとなっている。

(3) 基本的な生態系影響評価手法

このように自然環境中の生物も農業の環境挙動も評価対象地域に大きく依存している事が分かるが、各対象生物に対する生態影響ポテンシャルと生物が暴露される濃度を比較するリスクベースの評価手法が基本となる。通常、影響評価は1段階ではなく、Fig. 3に示したように多段階で生態影響、暴露両面をより自然環境に近い方向に精緻化する、いわゆるTier方式によって進められている。

初期の低次評価 (Lower Tier) では、魚類 (高次消費者) ではニジマスやブルーギル、無脊椎動物 (低次消費者) ではミジンコ、植物 (生産者) では緑藻というような代表的な標準生物種について、例えば経済協力開発機構 (OECD, Organization for Economic Co-operation and Development) や米国環境保護局 (EPA, Environmental Protection Agency) で定められた標準化試験手法により実験室で得られる急性 (通常、1週間以内の暴露) 並びに長期 (通常、数週間から数ヶ月の暴露) の生態影響の指標値と簡便な暴露

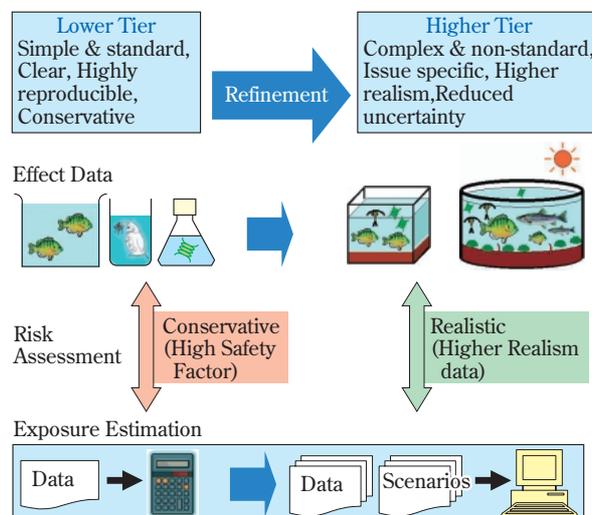


Fig. 3 General principle of the ecological risk assessment scheme

推算法により求められる環境中予測濃度との比を各規制当局が定めた保守的な安全係数と比較して評価を行う。この保守的な手法で十分な安全性が担保されない場合は、高次の影響評価 (Higher Tier) を実施することとなる。高次評価には水槽の中に小さな自然界を模したmodel ecosystem⁷⁾のような実験室系で行う小規模なものから屋外で実施する大規模なものまで、様々な模擬生態系試験系を含む多種多様の試験系がある。より精緻な評価のために、生態影響評価上の懸念点や自然環境での暴露場面を想定した複雑な試験系を設定することで自然界を模する条件での生態影響に関するデータを取得し、一方、様々な環境挙動パラメータを活用した高精度の環境中予測濃度を算定することとなる。尚、より自然界に近い形で得られるデータを用いた評価では、不確実要因の減少を考慮して低次評価で保守的に設定された安全係数 (例えば10) を減じることが一般的に行われる (例えば1)⁸⁾。

具体的な低次評価における標準的な生態影響の指標値としては、半数致死濃度LC₅₀ (Median Lethal Concentration)、50%影響濃度EC₅₀ (Median Effect Concentration)、最大無影響濃度NOEC (No Observed Effect Concentration) などが用いられ、暴露濃度の推算のためには水系への移行性、分解性の指標である農業の土壌への吸着係数Koc (organic carbon normalized adsorption coefficient) や各種分解半減期DT₅₀ (Disappearance Time 50) などが用いられる。一方、高次生態影響評価試験では評価値はその手法ごとに異なり、例えば、模擬生態系試験系では生態学上許容され得る影響や影響による症状からの回復性も考慮した生態学的に悪影響の認められない最高濃度NOEAEC (No Observed Ecologi-

cally Adverse Effect Concentration) などが多用されている。

2. 各地域(日本、米国、EU)の水圏生態系影響評価
各国、各地域での農業登録における環境影響評価も異なっており、以下に例として、日本、米国、EUにおける淡水の水圏生態系影響評価法について紹介する。

(1) 日本

日本におけるデータ要求、評価手法、許容基準^{9)–11)}の概要をTable 2に示す。日本では淡水域の代表である比較的急峻な河川での短期的な暴露を想定した急性影響に重点をおいた評価が特徴と言える。

低次評価においては魚類(コイまたはメダカ)、オオミジンコ(*Daphnia magna*)、緑藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*)の急性(あるいは短期)試験データが要求され、長期試験として、水中残留性の高い昆虫成長調節剤でオオミジンコの繁殖性に及ぼす影響データが必要となる⁹⁾。急性・短期試験で得られたLC₅₀、EC₅₀値を不確実係数規定値、すなわち魚とミジンコでは10、緑藻では1で除す事により急性影響濃度(AEC: Acute Effect Concentration)を算出し、この最低値と環境中予測濃度(水産PEC: Predicted Environmental Concentration)を比較して影響評価を行う。AECが水産PECより低く生態影響に懸念がある場合には、生物種間、成長段階間の感受性差に着目した試験あるいは自然水中に存在するフミン物質などによる農業の生物利用能(bioavailability)の変化に着目した試験などの高次試験により、低次試験で得られた生態影響をより現実に近いものに見直すことでAECの精緻化を行う。並行して、暴露濃度である第一段階(Tier 1 PEC)から水田での減衰や非水田からの流出に関する試験データを組み込んだ第二段階(Tier 2 PEC)や圃場データも加味した第三段階(Tier 3 PEC)などの精緻化も行うことになる。なお、高次評価手法の今後の課題として実環境に近い流水マイクロコスム試験や回復性試験なども挙げられている^{10), 11)}。

(2) 米国

米国EPAにおけるデータ要求、評価手法、許容基準^{12)–18)}の概要をTable 3に示す。低次評価においても各種Triggerによる多段階的な試験要求のある点が1つの特徴と言える。

低次評価においては魚類2種(原則としてニジマスおよびブルーギル)、オオミジンコ、緑藻*P. subcapitata*の急性(あるいは短期)試験データが要求され、用

Table 2 Data requirements and aquatic ecotoxicological risk assessment in Japanese pesticide registration

	Lower Tier	Higher Tier
Effect	Acute/Short-term LC ₅₀ /EC ₅₀ Fish: Carp or Medaka, 96h Invertebrate: <i>Daphnia magna</i> , 48h Aquatic plant: Green alga, 72h Chronic/Long-term NOEC Invertebrate*: <i>Daphnia magna</i> , 21d	Additional species test (2-6 species) Lowest L(E)C ₅₀ Bioavailability in natural water L(E)C ₅₀ at TOC1.5mg/L Life stage (adult/neonate) sensitivity Geometric mean L(E)C ₅₀
Exposure	Tier 1 Simulation PEC Input parameter: Use pattern	Tier 2/3 Simulation PEC Input parameter: Use pattern, Chemical properties (e.g. measured concentration), Scenarios (e.g. water flow)
Risk Assessment	Comparison of AEC and PEC AEC = fish LC ₅₀ /10, <i>Daphnia</i> EC ₅₀ /10, algal EC ₅₀ /1	Comparison of AEC and PEC AEC = lowest L(E)C ₅₀ /(2-4), L(E)C ₅₀ at TOC1.5mg/L, Geometric mean L(E)C ₅₀

*: Conditionally required (triggered by pesticide profile)

Table 3 Data requirements and aquatic ecotoxicological risk assessment in US EPA pesticide registration

	Lower Tier	Higher Tier
Effect	Acute/Short-term LC ₅₀ /EC ₅₀ Fish: Rainbow trout and Bluegill, 96h Invertebrate: <i>Daphnia magna</i> , 48h; Midge*, 10d; Amphipod*, 10d Aquatic plant: Green alga, 96h; Other plants* (Blue-green alga, Diatom, 96h; Duckweed, 7d) Chronic/Long-term NOEC Fish: ELS test, FLC test* Invertebrate: <i>Daphnia magna</i> , 21d; Midge*, 64d; Amphipod*, 42d	Simulated or actual field test (possibly including microcosm test)
Exposure	GENEEC2 Simulation EEC Input parameter: Use pattern, Chemical properties (e.g. Koc)	EXPRESS Simulation EEC Input parameter: Use pattern, Chemical properties (e.g. Koc), Scenarios (e.g. meteorological)
Risk Assessment	Risk quotient evaluation acute RQ = EEC/L(E)C ₅₀ < 0.1 chronic RQ = EEC/NOEC(plant EC ₅₀) < 1	Case by case

*: Conditionally required (triggered by use pattern, physico-chemical properties, other effect data, etc.)

途によってはウキクサや緑藻以外の藻類(珪藻、藍藻)のデータも必要となる。加えて、長期試験として魚類の卵から稚魚までの暴露による影響を調べる初期発育段階毒性試験(ELS試験、Early Life Stage toxicity test)およびオオミジンコの繁殖性試験が要求される¹²⁾。得られた短期LC₅₀、EC₅₀、長期NOEC値の環境中予測濃度EEC(Estimated Environmental Con-

centration) に対する比であるRQ値 (risk quotient : EEC/LC₅₀, EEC/EC₅₀, EEC/NOEC) を算出する。安全性確保の為に、急性、長期 (増殖性を評価している藻類、ウキクサ試験も含む) でそれぞれ0.1 (絶滅危惧種では0.05)、1を下回る必要があり、不十分な場合は高次評価 (EEC精緻化、高次の生態影響評価試験データ) により詳細なリスク評価を実施するか、あるいは施用量減や散布安全区域 (buffer zone) の設定など施用方法の変更などの措置 (risk mitigation) を要する¹³⁾⁻¹⁵⁾。ところで、低次の生態影響評価試験や環境運命試験結果によっては、第二段階のより複雑な標準生態影響評価試験が必要となる。例えば、魚ELS試験結果によっては魚生活環毒性試験 (FLC試験、Full Life Cycle toxicity test) が、また、物化性や環境運命試験結果から底質中に農薬が顕著に残留すると予想される場合には、ユスリカおよびヨコエビといった底生生物 (Sediment-dwellers) での短期または長期試験も必要となり¹²⁾、上記と同様にRQ値の評価、必要に応じて安全性評価の為に高次評価を行う。

高次生態影響評価試験としては、0.1ヘクタール規模の屋外メソコスム試験が挙げられているが、試験の複雑さや高度な統計学手法による生物試験結果の解釈の難しさから、昨今では原則としてEPAからの試験要求はなく、より小規模のマイクロコスム試験や危険、有用性解析やリスクマネージメントの提唱がなされている¹³⁾⁻¹⁶⁾。また、並行して算定されるEECについても、簡便な物化性、環境挙動パラメータなどに基づくGENEEC2 (GENeric Estimated Environmental Concentration model, version 2)¹⁷⁾を用いたTier-1シミュレーションから、物化性、環境運命データ、作物の生育状況や土壌物性データ、長期の気象データなどに基づく高次評価シミュレーションであるEXPRESS (EXAMS-PRZM Exposure Simulation Shell)^{17), 18)}による精緻化が実施される。なお、今後の評価手法について検討されたECOFRAM (Ecological Committee On FIFRA Risk Assessment) の報告書¹⁹⁾では、より確率論的な方策や詳細な地形情報に基づくGIS (Geographic Information System) を活用した精緻な暴露評価や個体群モデリングなどの手法が挙げられている。

(3) 欧州 (European Union)

EUにおけるデータ要求、評価手法、許容基準²⁰⁾⁻²³⁾の概要をTable 4に示す。

低次評価においては魚類2種 (ニジマスおよび温水魚1種)、オオミジンコ、緑藻 (望ましくは*P. subcapitata*または*Scenedesmus subspicatus*) の急性 (あるいは短期) 試験データが要求され、用途によってはウキクサや緑藻以外の藻類やユスリカなどでの影響評

Table 4 Data requirements and aquatic ecotoxicological risk assessment in EU pesticide registration

	Lower Tier	Higher Tier
Effect	Acute/Short-term LC ₅₀ /EC ₅₀ Fish : Rainbow trout & 1 fish, 96h Invertebrate: <i>Daphnia magna</i> , 48h ; Midge*, 48h ; Other species*	Microcosm/Mesocosm Modified exposure test Indoor multi-species test Outdoor multi-species test
	Aquatic plant: Green alga, 72h ; Other plants* (Blue-green alga or Diatom, 72h ; Duckweed, 7d) Chronic/Long-term NOEC Fish : Prolong or ELS or FLC test Invertebrate : <i>Daphnia magna</i> , 21d ; Midge*, 28d ; Other species*	Species Sensitivity analysis Additional species tests Probabilistic approach
Exposure	FOCUS STEP 1/2 Simulation PEC Input parameter : Use pattern, Chemical properties (e.g. Koc)	FOCUS STEP 3/4 Simulation PEC Input parameter : Use pattern, Chemical properties (e.g. Koc), Scenarios (e.g. meteorological)
Risk Assessment	TER evaluation TER _{st} = L(E)C ₅₀ /PEC > 100 TER _{lt} = NOEC (plant EC ₅₀)/PEC > 10	Case by case

* : Conditionally required (triggered by use pattern, physico-chemical properties, other effect data, etc.)

価も必要となる。加えて、農薬の散布方法により、対象とする生物種が長期あるいは繰返して暴露される事が否定できない場合には、魚類の長期試験およびオオミジンコの繁殖性試験が要求される²⁰⁾。得られたLC₅₀、EC₅₀、NOEC値に対する環境中予測濃度 (PEC) の比であるTER値 (Toxicity Exposure Ratio : LC₅₀/PEC, EC₅₀/PEC, NOEC/PEC) を算出し、安全性を確保する為に急性、長期 (藻類、ウキクサ試験も含む) でそれぞれ100、10を上回る必要がある。もしTER値が不十分な場合には、生態影響における懸念点を踏まえた高次試験と安全性評価が必要になる。また、環境運命試験結果から農薬が底質中に顕著に残留すると予想される場合には、底生生物であるユスリカの長期試験も必要となり、上記と同様にTER値による評価や高次評価が必要となる^{21), 22)}。

高次試験としては、複数生物種の指標値 (LC₅₀、EC₅₀、NOEC) の取得による不確実性の低減を通じた安全係数基準 (TER基準 : 急性100、長期10) の軽減、自然環境下での暴露を模した底質-水系条件下での標準試験、或いは生物の多様性や相互影響なども考慮できる生物群集 (multi-species) を用いた室内あるいは屋外のいわゆる模擬生態系試験系 (それぞれindoor multi-species microcosm, outdoor multi-species mesocosm) が提唱されており、最近では確率論的手法 (probabilistic approach)、すなわち各種非標準生物種の感受性分布などをより確率論的に精緻化する評価手法などが挙げられている²²⁾。暴露濃度となる環境中予

測濃度については、FOCUS (FORum for the Co-ordination of pesticide fate models and their Use) によって段階的なシミュレーション (FOCUS Surface Water) が義務付けられており、非現実的な最悪暴露 (unrealistic worst-case scenario) 条件の下に南北EU地域での複数回散布での保守的な暴露濃度を算定するSTEP 1, 2に始まり、作物毎の気象や地理条件などを組み込み、より現実的なシミュレーションを行うSTEP 3, 4が用意されている。STEP 1, 2では農業の物化性、環境挙動パラメータなどの簡便なパラメータに基づき計算が行われるが、高次段階では膨大な物化性、環境運命データ、作物生育関連データ、具体的な気象・地理データなどに基づく精緻なシミュレーション、更には暴露軽減策としての農地から水圏までの緩衝地帯 (buffer zone) の設定によるドリフトの低減が想定されており、顕著なPECの精緻化が可能となっている²³⁾。なお、今後の更なる評価手法、影響軽減策の高度化に向けFOCUS Working Groupから2005年に出された報告書²⁴⁾では、ドリフトレスノズルによるドリフト低減、緩衝地帯による表面流亡での水系流入低減の考慮などの様々な暴露軽減・精緻化手法に加えて、影響を受けた個体群の近隣からの移入も踏まえ生態系の回復性を精緻に評価するための手法としてメタ個体群モデリングなどが提唱されている。

生態影響評価における高次試験の具体例

1. 高次試験の特徴

高次試験 (Higher Tier study) の試験設計は定型と言うものが存在せず、対象となる生物種の生態影響における懸念点やより現実に近い条件における精緻評価を考慮してケースバイケースで行う。例えば追加生物種での標準試験データの蓄積や確率論的な解析による生物の感受性差 (種間、成長段階間) の精緻化なども挙げられるが、各種の農業について実施されている試験手法として、より直接的に実環境に対する生態影響評価を行う模擬生態系試験、すなわちマイクロコスム・メソコスム試験がある。

マイクロコスム・メソコスム試験は元来、農業に限らず化学的、物理的、生物的ストレスが生態系へ与える影響を評価する有用な研究手法の1つとして生態学の分野で活用されてきた^{25), 26)}。農業のリスクアセスメントにおいても、その移行性や分解性を含めた環境運命とFig. 1で示されるような多種多様な生物の相互作用を含めた精緻な生態系の評価を可能にすることから、高次試験の有用な試験手法の1つと考えられている。

ところで、マイクロコスムとメソコスムを明確に別ける定義はなく、一般的には規模の違いや、室内・

Table 5 Comparison of the standard lab test, mesocosm and microcosm studies

	Lab test	Microcosm test	Mesocosm test
Size of the test system	Small 	Medium 	Large 
Uncertainty of risk assessment	High		Low
Ecological and environmental reality	Low		High
Interaction of species	Few		Many
Repeatability and handling	High		Low
Volume of effect information	Low		High
Complexity of interpretation	Low		High
Cost and work volume	Low		High

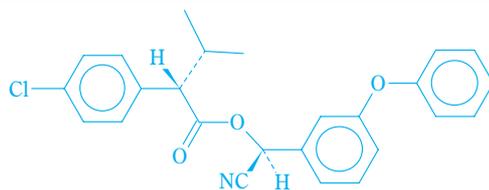
野外の違いにより区別される場合が多い^{27), 28)}。Table 5に標準的な室内試験 (Lower Tier study)、マイクロコスム試験およびメソコスム試験の特徴を比較してまとめている。

一般的には、系が大きくなるほど多くの生物種や環境要因、食物連鎖などが含まれることから生態系としての現実性が増し、直接的な生態影響のみならず生物間相互作用に起因する低感受性生物への間接的な影響 (例えば餌生物減少による繁殖数低下) や生態系全体の群集構造など、より精緻な評価が可能となる。一方、系が大きくなるほど再現性が乏しく操作が困難になりがちで、費用や労力もかかるなどの懸念点がある。さらには得られる多量なデータにより解釈が複雑となるため、高度な科学的・統計学的な専門知識も要求される。従って、評価目的に応じた適切な試験系の構築やデータ解析が最重要であり、0.1ヘクタール規模の米国EPAメソコスム試験ガイドライン^{29), 30)}以降、様々な留意点が専門家ワークショップやガイダンスで挙げられ議論されてきた^{8), 16), 19), 31)-35)}。さらに毎年、国際学会や学術論文で多数の発表がなされ、現在もより適切、精緻な評価のための適した試験系、評価法についての議論が続けられている。

当社農業についても、その農業としての生物活性ゆえに、ある種の生物種に対する生態影響に対する懸念の払拭が必要となり、以下に紹介する剤では最先端の評価試験と解析技術により、高次試験であるマイクロコスム・メソコスム試験を通してその安全性を示すことができた。

Table 6 Brief summary of environmental fate and ecotoxicological profiles of esfenvalerate

Structure :



Core Aquatic Fate Profile :

Water-Sediment Dissipation from water phase 33% immediately after application

Core Effect Profile:

Acute/Short-term

Fish

Rainbow trout
Bluegill sunfish
Fathead minnow

96h-LC₅₀ = 0.1 – 0.302 µg/L
96h-LC₅₀ = 0.205 µg/L
96h-LC₅₀ = 0.18 µg/L

Invertebrate

Daphnia magna

48h-EC₅₀ = 0.228 – 0.9 µg/L

Aquatic plant

Green alga

96h-EC₅₀ = 6.5 – 9.1 µg/L

Chronic/long-term

Fish

Rainbow trout
Fathead minnow*

21d-NOEC = 0.001 µg/L
260d-NOEC = 0.09 µg/L

Invertebrate

Daphnia magna
Chironomus riparius

21d-NOEC = 0.0018 µg/L
28d-NOEC = 0.16 µg/L

* : Data of fenvalerate

2. 具体例

(1) エスフェンバレレート

生物種や気候、使用法の地域性も組み込んだ試験手法として屋外メソコスム試験（Outdoor multi-species mesocosm）が挙げられる。ピレスロイド系殺虫剤であるエスフェンバレレートはその作用性から水生生物の感受性種の範囲が広く、またその影響も大きいことから（Table 6）、米国においてもメソコスム試験が過去に実施されている^{36)–38)}。

一方、当剤のEU域内での生態系への安全性確保の為に、現地（EU）での精緻な屋外メソコスム試験が必要と考えられた。加えて、各種ガイドランスにあり^{33), 35)}、魚類の移動能や捕食圧は他の水生生物（無脊椎動物）を圧倒するため、試験系内の生態系を大きく変化・破壊してしまう恐れがあり、評価対象となる魚と無脊椎動物は別々の試験系で評価すべきと考えた。そこで、多くの生物種を評価する無脊椎動物メソコスム試験と、魚への短期、長期の影響ならびに非暴露域からの移入魚に与える影響を評価する為の特殊な魚メソコスム試験の2試験系が適切と判断した。

実施した2種のメソコスム試験では、多種多様な無脊椎動物への影響、生物間相互作用並びに生態系全体の群集構造について、また魚については散布域に移入する個体への影響や食物連鎖を考慮した長期的な影響を詳細に評価し、いずれも実施用に基づく環境中予測濃度においてエスフェンバレレートの安全性を実証することができた。これら2試験について以下に紹介する。



Fig. 4 Photograph of the test system (invertebrate mesocosm)

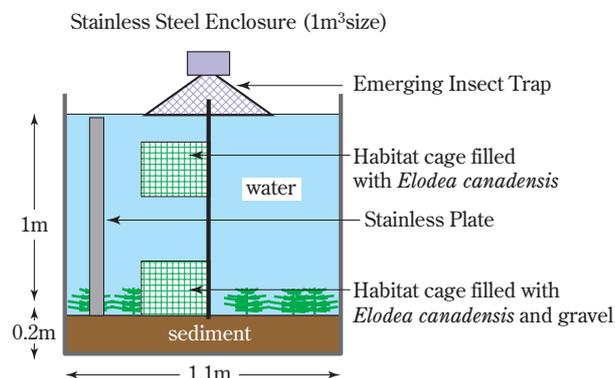


Fig. 5 Schematic view of the enclosure (invertebrate mesocosm)

①無脊椎動物メソコスム試験

メソコスム試験系は、test basinと呼ばれる大型プールにボーデン湖（ドイツ、オーストリア、スイス国境に接した湖）から採取した自然水および底質を生物ごと導入し、数ヶ月に渡る順化期間を経て生態系が安定・確立された後に、各試験容器となるエンクロージャーと呼ばれるステンレス製シリンダーを設置することで作成した（Fig. 4, 5）。

試験期間は、各種生物の個体数が豊富かつ安定に維持される初夏から秋までの数ヶ月以内とした。生活史や生息場所、行動域の異なる各種生物を評価するために、砂利や水生植物を入れたケージを、巻貝などの付着生物用にステンレス板を、羽化した水生昆虫を捕えるためのトラップを各エンクロージャー内に配置し、定期的なサンプリングを通して多様な生物種の評価を行った。更に、個体数の少なさから評価不十分となり得る生物種に関しては、当該生物を收容したメッシュケージを別途投入するか、もしくは、試験系から採取した暴露水での室内生態影響評価試験を実施した。本試験系により、仔虫や成虫の別も含め、約80種の生物種について薬剤処理によ

る直接影響のみならず間接影響による個体数の増減やその影響からの回復性も含めた影響評価を実施した。なお、試験では放射性同位元素¹⁴Cで標識したエスフェンバレートをを用いることで、水層ならびに底質層の定期的な分析により処理濃度の検証、分解物の環境挙動も詳細に評価した。Fig. 6にエスフェンバレートならびにその主要代謝物であるPB acid（3-Phenoxybenzoic acid）の挙動を示す。

生物評価の1例としてシカクミジンコモドキ（*Alonella* spp.）への影響をFig. 7に示した。複雑な試験系において、比較的大きな生物応答のばらつきの下に被験物質由来の生態影響を精緻に評価するためには、用量反応パターンを明確にすることが有効であり、ポジティブコントロールとして非現実的高濃度区の設定も有用であった。Fig. 7で見られるようにポジティブコントロール区（200 ng/L）に散布初期に有意な生態影響が認められたものの、その影響も2週間程度で回復する一過性のものであった。

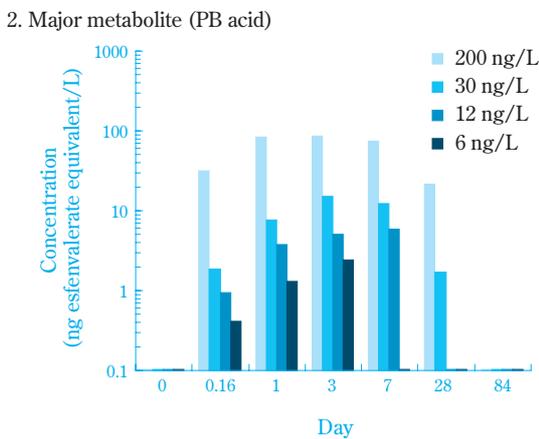
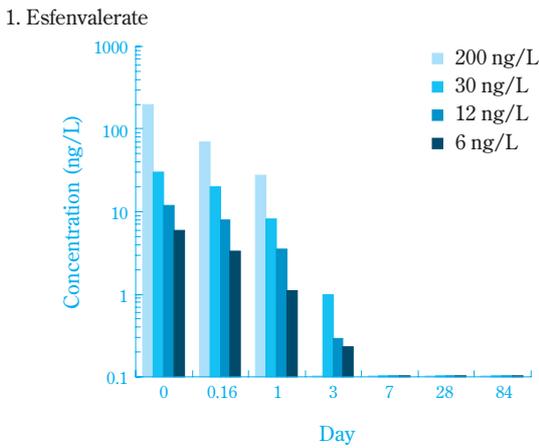


Fig. 6 Concentrations of esfenvalerate and its metabolite in water

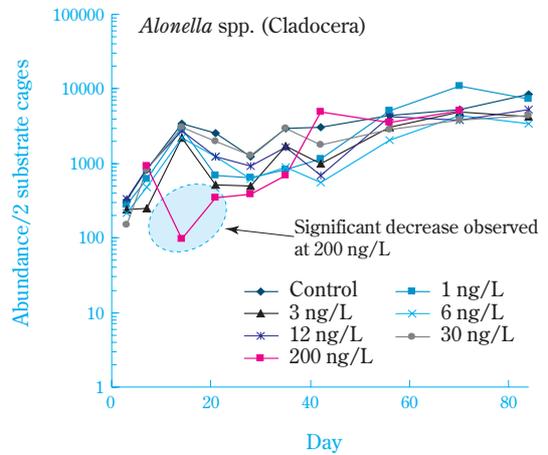


Fig. 7 Graph of the changes in abundance of *Alonella* spp.

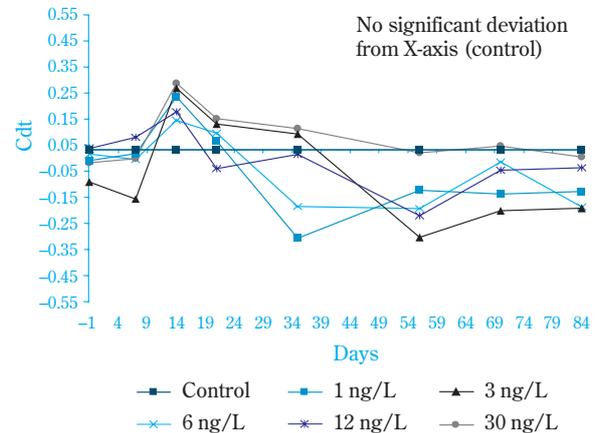


Fig. 8 A typical PRC diagram for community structure evaluation (substrate associated organisms)

Table 7 Summary of the effect classification

	Effect Classification*					
	1 ng/L	3 ng/L	6 ng/L	12 ng/L	30 ng/L	200 ng/L
Population (number of evaluated taxa)						
Phytoplankton (14)	1	1	1	1	1 NOEC	1-2
Periphyton (2)	1	1	1	1	1	1 NOEC
Macrophytes (1)	1	1	1	1	1	1 NOEC
Zooplankton (29)	1	1	1 NOEC	1-2	1-3	1-5
Macroinvertebrates (34)	1	1	1	1 NOEC	1-3	1-5
Community						
Phytoplankton	1	1	1	1	1 NOEC	NA
Open water invertebrate	1	1	1	1	1 NOEC	NA
Substrate associated	1	1	1	1	1 NOEC	NA
Sediment dweller	1	1	1	1	1 NOEC	NA
Emergent insect	1	1	1	1	1 NOEC	NA
Taxonomic Richness	1	1	1	1	1 NOEC	1-3
Ecological evaluation including recovery						
NOEAEC					X	

* : Effect classification was based on the EU guidance and summarized as follows :

Class 1 : no effect ; Class 2 : slight effect ; Class 3 : short term effect ; Class 4 : long term effect with recovery ; Class 5 : irreversible long-term effect

このような各生物種の評価に加えて、生態系評価では系の多様性、群集構造の解析が重要な為、PRC (Principal Response Curve) と呼ばれる多変量解析での群集構造解析が重要となる²²⁾。Fig. 8はケージ内(水草や砂利)を生息場所とする生物群集のPRC(ポジティブコントロール区を除く)である。グラフのX軸が対照区の生物構成を示しているため、このX軸からの乖離は処理区と対照区の群集構造の違いを示す。これによると、全濃度区とも試験期間中を通じて対照区との乖離は小さく群集構造には影響の無いことがわかる。

このような個々の詳細な解析結果に基づくメソコスム試験の生物評価のまとめがTable 7である。EUのガイダンス²²⁾を踏まえて、個体群 (population) および群集 (community) への影響レベルを“無影響”から“回復不能な長期影響”までの1~5の段階で評価した。その結果として個体群の最大無影響濃度 (NOEC population) は6 ng/L、群集の最大無影響濃度 (NOEC community) は30 ng/Lと評価され、最終的に回復性も考慮した生態学的に悪影響の認められない最高濃度 (NOEAEC) は30 ng/Lと評価された³⁹⁾。

魚メソコスム試験

試験系は無脊椎動物試験系と同様に設置できるが、魚の捕食圧の高さやバイオマスの大きさ、水質・その他生物の維持、生物観察法など幾つかの配慮が必要と考え、より大きな試験系を用い、収容ケージの設置、長期暴露における底質と魚の接触、餌補充などを設計した (Fig. 9, 10)。



Fig. 9 Photograph of the test system (fish mesocosm)

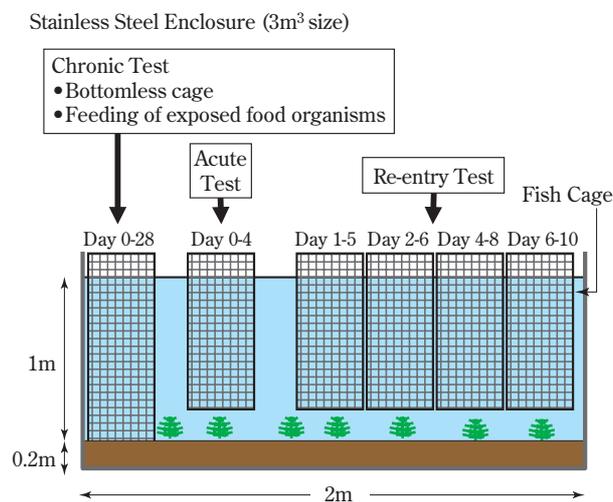


Fig. 10 Schematic view of the enclosure (fish mesocosm)

急性での生態影響評価はケージに隔離した魚を水系に暴露する事により行った。一方、長期影響評価では、ケージの底を抜いて被験物質の吸着した底質への魚の接触（採餌行動）も想定し、更に餌の補充は、別途エスフェンバレレートに暴露した餌生物（底生ミズズリやユスリカ、多数の小型容器で調製）により行い、食物連鎖を介した暴露も考慮したより現実に近い評価試験系を構築することとした。更に、エスフェンバレレートによる暴露のない水域から移入する魚に与える影響を調べる為、魚を入れたケージを被験物質処理後に追加投入し、生態影響の軽減を実証することとした。Fig. 11に示すとおり、メソ

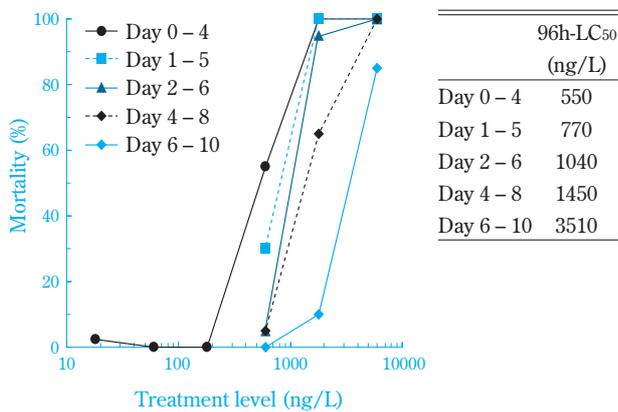


Fig. 11 Results of the acute and re-entry tests

コスム試験系におけるニジマスの急性LC₅₀値は550 ng/LとLower Tier試験の結果よりも約5倍高いものであり、追加投入された魚への影響も散布後の経過時間と共に明確に減少し、移入魚を含めた個体群としての生態影響からの回復能も示すことができた。

また、エスフェンバレレートに暴露された生物の給餌による食物連鎖を介した長期生態影響評価試験においては、体重、体長の増加率などに代表される成長に及ぼす影響を的確に評価し、環境中予測濃度よりも極めて高く現実では起こりえない試験最高濃度180 ng/Lでもエスフェンバレレートの魚に対する安全性を実証することができた (Table 8)³⁹⁾。

Table 8 Results of the chronic rainbow trout test

	Survival (%)	Growth rates (r)	
		Wet weight	Total length
Control	100	1.5 ± 0.026	0.25 ± 0.010
18 ng/L	95	1.4 ± 0.054	0.25 ± 0.019
60 ng/L	100	1.5 ± 0.004	0.23 ± 0.024
180 ng/L	100	1.4 ± 0.052	0.23 ± 0.011
NOEC	180 ng/L	180 ng/L	180 ng/L
Overall NOEC		180 ng/L	

$$r = 100 \times (\log A_{28} - \log A_0) \times (t_{28} - t_0)^{-1}$$

A₂₈: weight or length of Day 28

A₀: weight or length of Day 0 in fish culture

t₂₈, t₀: time (days) of test initiation and termination, i.e.

Day 0 and Day 28

(OECD guideline 215)

Table 9 Brief summary of environmental fate and ecotoxicological profiles of pyriproxyfen

Structure :		
Core Aquatic Fate Profile :		
Water-Sediment	DT ₅₀ in water phase	1.4 - 1.5 days
Core Effect Profile :		
Acute/Short-term		
Fish	Rainbow trout	96h-LC ₅₀ = 218 - > 325 µg/L
	Bluegill sunfish	96h-LC ₅₀ > 270 µg/L
Invertebrate	<i>Daphnia magna</i>	48h-EC ₅₀ = 187 - 400 µg/L
Aquatic plant	Green alga	72h-EC ₅₀ = 64 - 66 µg/L
Chronic/long-term		
Fish	Rainbow trout	95d-NOEC = 4.3 µg/L
Invertebrate	<i>Daphnia magna</i>	21d-NOEC = 0.015 µg/L
	<i>Chironomus riparius</i>	28d-NOEC = 10 µg/L
	<i>Asellus hilgendorffi</i>	19d-NOEC = 10 µg/L
	<i>Tigriopus japonicus</i>	8d-NOEC = 10 µg/L
	<i>Mysidopsis bahia</i>	28d-NOEC = 0.81 µg/L
	<i>Daphnia pulex</i>	Recovered after 1.88 µg/L exposure
	Recovery in clean water	

(2) ピリプロキシフェン

昆虫幼若ホルモン類縁体に分類される昆虫成長調節剤であるピリプロキシフェンは、その作用性から環境生物に対する影響の範囲は限定的と考えられ、事実、Table 9に示すように魚や藻類での感受性は低く、無脊椎動物でもミジンコ類にのみ低濃度で顕著な繁殖低下を呈するものの、他のミズムシ、ケンミジンコ、ユスリカ、アミエビなどの生物種では1桁以上生態影響の弱い事が分かった。

ミジンコ類への生態影響をより詳細に検討する為、ピリプロキシフェンの自然水圏を模した水・底質系における環境運命試験を実施した。ピリプロキシフェンの水中からの減衰は速やかで、かつミジンコ類の繁殖に与える影響は清水に移すことにより速やかに消失した⁴⁰⁾ (Table 9) ことから、自然界においては、ピリプロキシフェンによるミジンコ類への影響は発現しないか、仮に発現したとしても一過性で競合者を含む生態系の群集における変化は許容範囲内と考えられた。

さらに詳細にミジンコ類への生態影響を調べる為に、高次試験系として室内プランクトン群集マイクロコスム試験を実施した。プランクトン群集を含む天然の水、底質（オランダ）を実験室内の約20Lの試験容器に導入した (Fig. 12)。

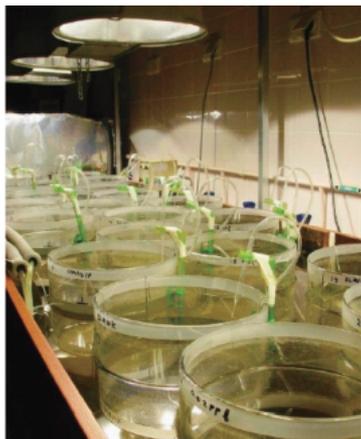


Fig. 12 Test system of the indoor multi-species zooplankton dominated microcosm

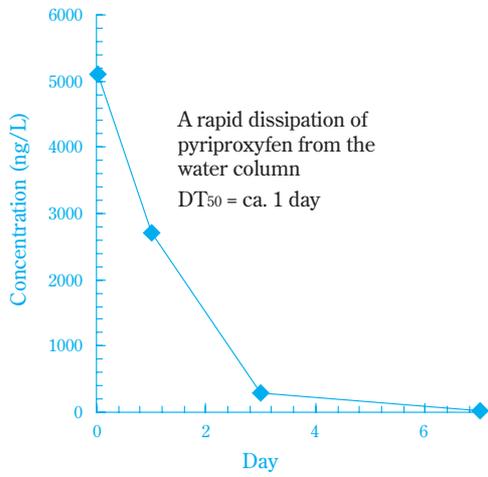
本試験系は、室内の比較的小さな試験系であるため化合物の分解能（太陽光による光分解など）や大型生物や飛翔能のある生物への適応性には制約はあるものの、特にプランクトン群集の反応の精緻評価ができる事が知られている²²⁾。Fig. 13-1に示すとおり、処理後のピリプロキシフェン濃度は速やかに減少し、この試験系でのピリプロキシフェンの環境運命を含めた生態影響評価が可能であることを確認した。ミジンコ類の個体数減少は非現実的な最高濃度

区でのみ短期間認められ、その個体数も速やかに無処理区レベルまで回復した (Fig. 13-2)。ミジンコ類と餌を競合しうるワムシ類に一過性の個体数の増加（間接影響）が認められたが (Fig. 13-3)、PRCのグラフ (Fig. 13-4) で示されるとおりプランクトン全体の群集構造の変化は一過性で、試験後半には無処理区からの逸脱度であるX軸との乖離は消失し群集構造の回復を示す事ができた。この試験における回復性も考慮したNOEAECは非現実的な高濃度の最高試験濃度区であると示す事ができた。

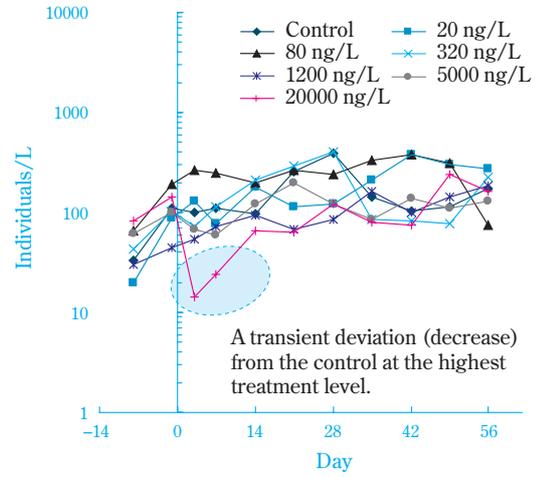
尚、ミジンコ類はその繁殖様式が特殊で、通常は雌個体のみで単為生殖により幼体を産出し繁殖する (Table 1, ArthropodaのParthenogenetic reproductionに分類される) が季節、低温、短日、餌不足といった環境条件変化などにより雄個体が産出され両性生殖により耐久卵と呼ばれる越冬できる卵を産出するというユニークでしたたかな繁殖戦略を有する。昆虫幼若ホルモン類縁体全般のミジンコ類に特異的な繁殖への影響は近年色々な研究がなされ、高濃度においては産出幼体は通常は雌個体のみとならず雄個体の割合が増加することが明らかとなった^{41)–43)}。しかしながら、ピリプロキシフェンの暴露による雄個体の産出は、明らかに繁殖低下を起させる高濃度暴露でしかみられず、ミジンコを清水に移すと繁殖影響と同様に変化は速やかに消失し、雌幼体のみで産出に戻る事が分かった。加えて、産出された雄個体は健全に成長し、活発な精子の放精の確認からその繁殖機能も示された⁴⁴⁾。これらのことから、ピリプロキシフェンの高濃度暴露での雄個体産出の環境影響評価における意義は非常に低いことが実証された。

(3) エトキサゾール

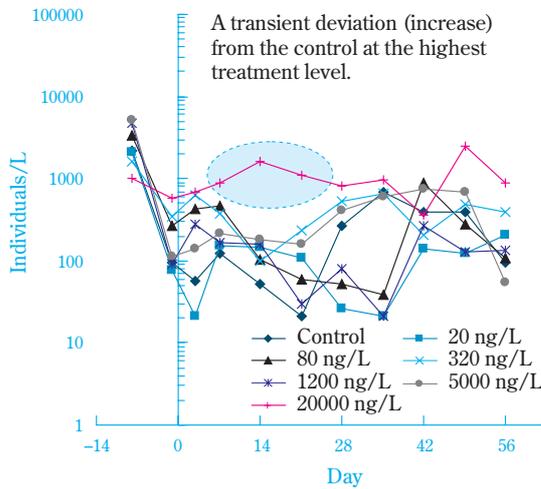
生態影響評価試験に使用する標準種と野生生物種との間での感受性の差や環境条件の違いによる変動が精緻な生態影響評価においては大きな不確実要因の1つである。この不確実要因は、低次評価では各地域の低次評価のTER、不確実係数、RQ基準値に考慮されているが、例えばEUにおける急性的な生態影響のTER基準の100すなわち暴露濃度との比100倍は時として感受性種の評価には非常に厳しい基準となり、高次評価が必要となる。その様な場合の精緻評価のための高次試験としては在来種とその生物多様性、当該地域の環境条件での精緻評価が重要となり、1手法としてはエスフェンバレートで紹介した現地における屋外試験系での評価が挙げられるものの、適切な試験施設・設備確保、気象条件予想・制御、試験系生態系の制御などの様々な制約からその試験法では精緻な評価に困難を来す可能性があり、場合によっては洪水などにより試験系が破壊され試験自



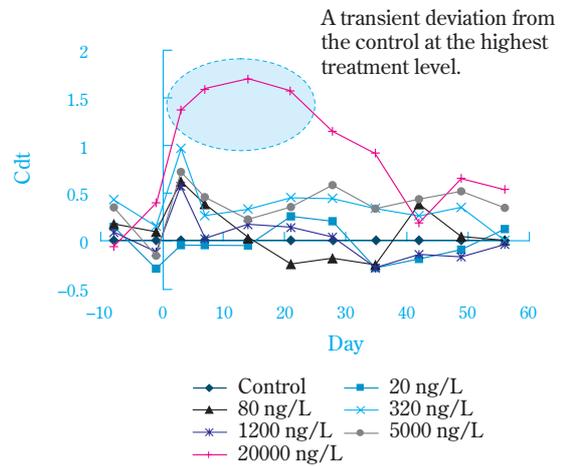
1. Dissipation of pyriproxyfen from water column of microcosm test system (5000 ng/L treatment)



2. Population changes of Cladoceran in the microcosm



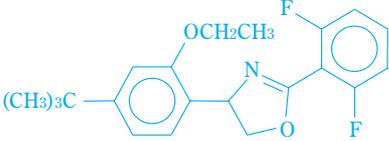
3. Population changes of Rotatoria in the microcosm



4. Principle response curve (PRC) analysis of zooplankton community in the microcosm

Fig. 13 Summary results of the indoor multi-species microcosm study of pyriproxyfen

Table 10 Brief summary of environmental fate and ecotoxicological profiles of etoxazole

Structure :		
		
Core Aquatic Fate Profile :		
Water-Sediment	DT ₅₀ in water phase	0.4 – 3.0 days
Core Effect Profile :		
Acute/Short-term		
Fish	Rainbow trout	96h-LC ₅₀ = 2800 µg/L
	Bluegill sunfish	96h-LC ₅₀ = 1400 µg/L
Invertebrate	<i>Daphnia magna</i>	48h-EC ₅₀ = 2.0 – 7.1 µg/L
	<i>Chironomus riparius</i>	10d-LC ₅₀ > 56000 µg/kg
Aquatic plant	Green alga	72h-EC ₅₀ > 10000 µg/L
Chronic/long-term		
Fish	Rainbow trout	89d-NOEC = 15 µg/L
Invertebrate	<i>Daphnia magna</i>	21d-NOEC = 0.2 µg/L
	<i>Chironomus riparius</i>	10d-NOEC = 25000 µg/kg

体不可能となることもある。生物や影響の懸念範囲が限定される場合は、現地の水、底質、生物種から構成した室内試験系で特殊な現地条件を設定することが有用と考えられ、エトキサゾールの安全性を実証する為に、南欧精緻評価用の室内マイクロコスム試験を実施した。

脱皮阻害活性を有する殺ダニ剤であるエトキサゾールへの暴露では、ダニと同じ節足動物で脱皮サイクルが比較的短いミジンコ類（実験室室温下：幼体約1～2日、成体約3日間隔）などは長期のみならず急性的にも生態影響が比較的強いが、その作用性から他の多くの水生生物に対する影響の少ない事が分かった（Table 10）。

水 - 底質系でエトキサゾールは速やかに水系から消失するものの、精緻な評価には暴露初期の各種ミジンコ類を始めとするプランクトン群集への影響を詳細に評価する必要があると考えた。また、南欧の夏季の高温、日長、藻類繁茂の富栄養状態などを考慮する必要があるが、実験室内においては温度・照明コントロール、栄養塩添加調節などにより条件設

定が比較的容易に実現可能である。現地（スペイン）の農地周辺での水系生態系を調査、採集し、主要構成要素である水、底質、水草などから実験室で100Lサイズのマイクロコスム試験系を構築し、試験系内に、色々な動物プランクトンの重要な生息場所である水草を収容したカゴを設置することでプランクトン群集の多様性も組み込んだ試験系を構築した。Table 11に示すとおり、この試験系で個体群（population）レベルでワムシ類、ケンミジンコ類、ミジンコ類、カイムシ類、合計12分類もの動物プランクトン類の詳細な評価ができた。最高濃度区で感受性種であるミジンコ類の1種のおカメミジンコ（*Simocephalus vetulus*）に短期間ではあるが個体数減少影響が、また、呼応して餌競合生物群であるワムシ類に短期間の増加が認められたが、全プランクトン個体数や生物多様性、群集構造などは最高濃度区においても影響は認められず、この試験におけるNOEAECは最高濃度区と判断され、標準試験の最感受性種の急性EC₅₀値付近での現地在来生物群への許容性を示すことができた。

Table 11 Summary results of the indoor multi-species microcosm study of etoxazole

	Effect Classification*		
	0.2 µg/L	0.66 µg/L	1.54 µg/L
Population			
Phytoplankton (Chlorophyll-a)	1	1	1 NOEC
Total Rotatoria	1	1 NOEC	2(increase)
Copepoda	1	1	1 NOEC
Copepoda	1	1	1 NOEC
Cyclopoida	1	1	1 NOEC
Nauplia	1	1	1 NOEC
Cladocera	1	1 NOEC	2(decrease)
<i>Simocephalus vetulus</i>	1	1 NOEC	2(decrease)
Chydoridae spp.	1	1	1 NOEC
Chydorus spp.	1	1	1 NOEC
Alona spp.	1	1	1 NOEC
Alonella spp.	1	1	1 NOEC
<i>Graptoleberis testudinaria</i>	1	1	1 NOEC
<i>Pleuroxus</i> spp.	1	1	1 NOEC
Total Ostracoda	1	1	1 NOEC
Total Crustacea	1	1	1 NOEC
Total zooplankton	1	1	1 NOEC
NOEC population		X	
Community			
Taxonomic Richness	1	1	1 NOEC
Community Structure	1	1	1 NOEC
NOEC community			X
NOEAEC			X

* : Effect classification was based on the EU guidance and summarized as follows :

- Class 1 : no effect ; Class 2 : slight effect ;
- Class 3 : short term effect ;
- Class 4 : long term effect with recovery ;
- Class 5 : irreversible long-term effect

今後の展望

自然環境や生物、生態系の複雑さ、未解明な点の多さとそれに関連した評価の難しさから、現在の評価体系、評価手法、解析手法、実験手法なども実用上様々な問題点、不明瞭・未解明な点を残しており、産業界、学術界、行政の各領域でも生態影響評価法の更なる研究・検討、改良・提案が計られ続けている。OECDテストガイドラインも生態影響評価試験は25手法（2008年3月）におよび、現在も低次評価ラボ標準試験の新たな生物種や試験法が検討されている。また、OECDを始め各地域で種々検討されている内分泌攪乱化学物質の試験・評価手法や、AEDG¹⁶⁾、HARAP⁸⁾、ECOFRAM¹⁹⁾、EUPRA⁴⁵⁾、環境省「平成16年度水産動植物登録保留基準設定検討会」報告¹¹⁾、FOCUS Working Group報告書²⁴⁾、など各種報告書などで提案され実際の活用がまだ不十分な様々な手法、すなわち確率論的手法、高度地域特異的シミュレーション、メタ個体群モデリング、流水系模擬生態系試験手法などの今後の更なる進展、実用化が望まれる。また、様々なQSAR毒性予測手法の活用や医薬開発などでも利用されてきているGenomics技術などの将来の活用性なども今後の更なる検討が期待される。今回紹介したマイクロコスム・メソコスム試験手法についても議論、応用、知見収集が続けられており、今後より一層のノウハウ、技術の集積による精緻評価の進展が望まれる。これらの最新技術を駆使することで、当社農業の生態系へ

の安全性を確認し、より環境にやさしい農業の開発を行ってきたい。

引用文献

- 1) 生物多様性条約 (平成5年12月21日発行) :
http://www.biodic.go.jp/biolaw/jo_hon.html
- 2) 谷津・内田, “動物分類名辞典”, 中山書店 (1988).
- 3) 日本比較内分泌学会編, “性分化とホルモン”, 学会出版センター (1984).
- 4) T. Katagi, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **175**, 79 (2002).
- 5) T. Katagi, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **182**, 1 (2004).
- 6) T. Katagi, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **187**, 133 (2006).
- 7) J. Miyamoto, W. Klein, Y. Takimoto and T. R. Roberts, *Pure & Appl. Chem.*, **57**, 1523 (1985).
- 8) P. J. Campbell, D. J. S. Arnold, T. C. M. Brock, N. J. Grandy, W. Heger, F. Heimbach, S. J. Maund and M. Streloke, “Guidance document on Higher-tier aquatic risk assessment for pesticides (HARAP)”, SETAC-Europe (1999).
- 9) 農林水産省農産園芸局長, “農業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, 一部改正平成19年4月2日18消安第14851号)” (2007).
- 10) 環境省, “水産動植物の被害防止に係る農業登録保留基準について”, <http://www.env.go.jp/water/sui-kaitei/kijun-index.html>
- 11) 環境省, “「平成16年度水産動植物登録保留基準設定検討会」報告” (2005).
- 12) Federal Register, Vol. 72, No. 207, Environmental Protection Agency, 40 CFR Parts 9, 152, 156, 159 et al. Pesticides; Data requirements for Conventional Chemicals, Technical Amendments and Data Requirements for Biochemical and Microbial Pesticides; Final Rules (2007).
- 13) U.S. Environmental Protection Agency, “Hazard Evaluation Division Standard Evaluation Procedure Ecological Risk Assessment, EPA 540/9-85-001” (1986).
- 14) U.S. Environmental Protection Agency, “Pesticide Reregistration Rejection Rate Analysis Ecological Effect, EPA 738-R-94-035” (1994).
- 15) U.S. Environmental Protection Agency, “Ecological Risk Assessment : Technical Overview”, http://www.epa.gov/oppefed1/ecorisk_ders/, Last updated on Friday, March 7th, 2008.
- 16) World Wildlife Fund/Resolve, “Improving aquatic risk assessment under FIFRA. Report of the aquatic effects dialogue group (AEDG)”, World Wildlife Fund, Washington, D. C” (1992).
- 17) U.S. Environmental Protection Agency, “Water Models”, <http://www.epa.gov/oppefed1/models/water/index.htm>, Last updated on Wednesday, October 31st, 2007.
- 18) U.S. Environmental Protection Agency, “User Manual for EXPRESS, the “EXAMS-PRZM Exposure Simulation Shell”, EPA/600/R-06/095” (2006).
- 19) ECOFRAM Aquatic Workgroup, “ECOFAM Aquatic Report” (1999).
- 20) European Commission, “Commission Directive 96/12/EC of 8 March 1996 amending Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market” (1996).
- 21) EU, “Council Directive 97/57/EC of 22 September 1997 establishing Annex VI to Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market” (1997).
- 22) European Commission, “Working Document Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology in the context of the Directive 91/414/EEC, Sanco/3268/2001 rev.4 (final)” (2002).
- 23) European Commission, “FUCUS surface water scenarios in the EU evaluation process under 91/414/EEC, SANCO/4802/2001-rev.2 final (May 2003)” (2003).
- 24) European Commission, “The Final Report of the FOCUS Working Group on Landscape and Mitigation Factors in Ecological Risk Assessment, SANCO/10422/2005, version 1.0” (2005).
- 25) 西條 八束, 坂本 充 編, “メソコスム湖沼生態系の解析”, 名古屋大学出版 (1993).
- 26) U. Riebesell, K. G. Schulz, R. G. J. Bellerby, M. Botros, P. Frische, M. Meyerhoefer, C. Neill, G. Nodal, A. Oschlies, J. Wohlers and E. Zoellner, *Nature*, **450**, 545 (2007).
- 27) E. P. Odum, The mesocosm. *Bioscience*, **34**, 558 (1984).
- 28) Th. Caquet, L. Lagadic, O. Jonot, W. Baturu, M. Kilanda, P. Simon, S. Le. Bras, M. Echaubard and F. Ramade, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **34**, 125 (1996).
- 29) L. W. Touart, “Aquatic mesocosm tests to support pesticide registrations, Technical guidance document, Hazard Evaluation Division, U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC.

- EPA/540/09-88-035” (1998).
- 30) EPA ecological effects test guidelines, “OPPTS 850.1950 Field Testing for Aquatic Organisms, Public Draft” (1996).
- 31) SETAC/RESOLVE, “Workshop on aquatic microcosms for ecological assessment of pesticides. Report from a meeting held at Wintergreen Virginia, USA” (1991).
- 32) N. O. Crossland, F. Heimbach, I. R. Hill, A. Boudou, Leeuwangh, P. Matthiessen and G. Persoone, “European workshop on freshwater field tests (EWOFFT)” (1992).
- 33) J. M. Giddings, Th. C. M. Brock, W. Heger, F. Heimbach, S. J. Maund, S. M. Norman, H. T. Ratte, C. Schafers and M. Streloke, “Community-Level Aquatic System Studies-Interpretation Criteria (CLASSIC)”, SETAC (2002).
- 34) SETAC, “Guidance document on testing procedures for pesticides in freshwater static mesocosms” (1992).
- 35) OECD, “Guidance document on simulated freshwater lentic field tests (outdoor microcosms and mesocosms)” (2006).
- 36) J. F. Fairchild, T. W. La Point, J. L. Zajicek, M. K. Nelson, F. J. Dwyer and P. A. Lovely, *Environ. Toxicol. Chem.*, **11**, 115 (1992).
- 37) S. J. Lozano, S. L. O’Halloran, K. W. Sargent and J. C. Branzner, *Environ. Toxicol. Chem.*, **11**, 35 (1992).
- 38) E. C. Webber, W. G. Deutsch, D. R. Bayne and W. C. Seesocck, *Environ. Toxicol. Chem.*, **11**, 87 (1992).
- 39) H. Tanaka, C. Schanne, T. Gries, M. Miyamoto, T. Katagi, Y. Nishimoto and T. Kumagai, “Evaluation of the Effects of Synthetic Pyrethroid Insecticide Esfenvalerate on Aquatic Ecosystem using Outdoor Microcosm Experiments”, 11th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, Poster Session III-3-51A (2006).
- 40) J. Miyamoto, M. Hirano, Y. Takimoto and M. Hatakoshi, “Insect Growth Regulators for Pest Control, with Emphasis on Juvenile Hormone Analogs”, in S. O. Duke, J. J. Menn and J. R. Plimmer, eds., *Pest Control with Enhanced Environmental Safety*, **524**, ACS Symposium Series American Chemical Society (1999), p. 144.
- 41) N. Tatarazako, S. Oda, H. Watanabe, M. Morita and T. Iguchi, *Chemosphere*, **55**, 827 (2003).
- 42) S. Oda, N. Tatarazako, H. Watanabe, M. Morita and T. Iguchi, *Chemosphere*, **60**, 74 (2005).
- 43) S. Oda, N. Tatarazako, H. Watanabe, M. Morita and T. Iguchi, *Chemosphere*, **61**, 1168 (2005).
- 44) S. Hagino, “A State of the Art of Testing Methods for Endocrine Disrupting Chemicals in Fish and Daphnids”, in H. Ohkawa, H. Miyagawa and P. W. Lee, eds., *Pesticide Chemistry*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA (2007), p. 415.
- 45) A. Hart, eds, “Probabilistic Risk Assessment for Pesticides in Europe (EUPRA)”, Central Science Laboratory (2001).

PROFILE



宮本 貢
Mitsugu MIYAMOTO
住友化学株式会社
生物環境科学研究所
主席研究員



片木 敏行
Toshiyuki KATAGI
住友化学株式会社
生物環境科学研究所
研究グループマネージャー
理学博士



田中 仁詞
Hitoshi TANAKA
住友化学株式会社
生物環境科学研究所
主任研究員
水産学博士