

Session Lecture 15

Environmental Fate and Ecological Effect

本セッションは、農薬の環境中でのリスクアセスメントを行う上で基礎情報として重要となる各種環境挙動並びに生態毒性試験法のうち、スクリーニング的なアセスメントを行う上で必要となる OECD や EPA-OPPTS で定められている標準的な試験法に加えて、より精緻で現実場面を反映したアセスメントを実施する上で重要となる非標準的で試験方法に幅のある、いわゆる高次試験について、環境挙動・生態毒性の観点から各分野での先端研究並びに規制動向の紹介、問題点の提議を行う事を目的として設定された。また、本 session が試験方法を主眼としている一方で、これらの試験結果を基にしたアセスメントの最新動向との関連も含めた討論が必要との観点から、Session Lecture 14 “Environmental Risk Assessment, Regulatory Aspects, and Risk Communication” (H. Yamamoto (Japan), M. Streloke (Germany)) のオーガナイザー、発表者とも連絡をとりつつ、総合的な環境面でのリスクアセスメントの現状と将来像に焦点を当てることを目的とした。

S15-1. A state of the art of testing methods for endocrine disrupting chemicals in fish and daphnids

野生生物に対する Endocrine disrupting chemicals (EDCs) の検出方法について、C. Hagino 氏 (Sumika Technoservice, Japan) から、魚、ミジンコについての報告があった。供試魚では、日本産メダカ、ファットヘッドミノー、ゼブラフィッシュなどが知られているが、飼育、生活環の長短、形態学的な性の判別のし易さなどから総合的に見て、遺伝的な性が個体の色調（雌、白；雄、オレンジ）で簡単に識別でき、かつ第2次性徴による形態学的な性が背びれや胸びれの高さで判別できる S-r メダカが最適とされ、エストロゲン、アンドロゲン、抗アンドロゲン作用を有する各種天然物と EDC の疑念を持つ 4-ノニルフェノールやビスフェノール-A などを用いた Sex reversal assay の結果が報告された。その結果、ED 作用物質では非常に低濃度から影響が認められるのに対して、ED 作用の疑われる化学物質では、一般毒性学的に求められる半致死濃度 (LC_{50}) に近い濃度まで相当する形態学的な性への影響は認められず、SPEED'98 でその ED 作用が疑われたマラチオン、ベノミル、各種ピレスロイドなどの農薬でも同様であった。尚、当該手法で得られた LOEC (Lowest observed effect concentration) は、partial life-cycle, life-cycle 試験での値とよく一致し、その有用性が示された。一方、性ホルモン以外にも甲状腺ホ

ルモンなどは鱗の形状など形態への影響のあることが示され、評価法への活用が示唆された。

ミジンコについては、Juvenile hormone mimics として知られているピリプロキシフェンを用い、Enhanced OECD #211 として提案されている手法に従い 21 日間の曝露を行った場合、一般毒性学的に求められる無影響濃度よりはるかに高い濃度でのみ雌個体から産生される仔の性が通常の雌から雄に変化するものの、清水に移し化合物への曝露をなくすと数日間で産生個体の性は通常の雌に回復することが示された。また産生される雄から精子が正常に放出されることも明確にとらえられた。以上のことから、温度変化や餌の減少、日照条件の変化など生育環境の悪化に伴っても産生仔の性変化の発現すること、化合物によって引き起こされた同変化が回復性のあることなどから、当該試験のエンドポイントの EDC 検出法としての妥当性判断については、ミジンコの生活史や生化学を含めた更なる基盤的な研究の必要であることが示された。

S15-2. Pesticide risk evaluation for birds and mammals-combining data from effect and exposure studies

欧州の農薬評価において規制の厳しい鳥類並びに野生生物の安全性評価手法並びにその問題点について C. Wolf 氏 (RIFCON GmbH, Germany) より報告された。通常の評価は Tier 方式で行われ、対象生物での毒性値と曝露濃度の比 (Toxicity Exposure Ratio) が安全係数 (急性で 10 等) を確保できる事で行われる。尚、特に野生生物の毒性データはヒトへの安全性評価の為に試験データを流用する事が多く不十分と考えられる。対象生物への曝露量は基本的に SANCO 4145/2000 のガイダンスで提唱されている以下の式で計算されており、FIR (餌摂取量)、C (餌中の農薬濃度)、PT (処理区域からの餌摂取比率)、PD (餌中の food type 比率) である。

$$ETE \text{ (Estimated Theoretical Exposure)} = (FIR/\text{体重}) \cdot C \cdot PT \cdot PD$$

現状の欧州評価体系では、ETE の計算は非常に保守的な初期値で求められる為、一般的に 75% 程度の農薬が安全係数未達となることが知られており、農薬の安全性をより詳細に評価する為、残留分析データ、各種文献からの情報を活用しながら上記各項目の精緻化を目的とした各種の試験が行われている。これらの項目の中で作物や対象生物に依存するデータは全ての農薬評価に有用であり、AGROBIRD、

AGROMAN といったデータベースが欧州では利用されている。Tier 方式による例としてあげられた有機リン剤の昆虫を主食とする鳥類毒性評価では、デフォルト値を用いた 1st-Tier で $TER < 0.5$ と計算されたものの、農薬散布対象の作物地域での対象種の決定、ラジオトラッキングによる PT 値並びに生存割合の調査、巣での挙動調査、餌の成分分析、餌となる昆虫での農薬の残留分析などを通じた精緻化により、急性 TER は 24 と改善されることが報告された。また長期の安全性評価については、圃場データの利用により多くの地点で十分な安全性が評価され、圃場での生態モニタリングでも巣での親・子鳥への影響は認められなかった。以上のことから、鳥類や野生生物の安全性評価では、圃場データの重要性、規制当局と申請者との十分な科学的協議による論点の明確化と対策立案、対象生物の生態学的な情報の更なる収集が重要である事が示された。

S15-3. Herbicide effect on aquatic algae

化学物質の藻類に与える影響を評価する標準的な手法としては緑藻を用いた成長阻害試験が OECD 法を初めとして実施されているが、一方で小川・河川などの流水系ではその生息形態から見て底質などに固着しやすい珪藻が主要種であると考えられ、かつ日本では稲作用の除草剤が多用されていることから、S. Ishihara 氏 (National Institute for Agro-Environmental Sciences, Japan) より、より高次の試験方法として単一種としての珪藻を用いた試験法、並びに河川から収集したコミュニティレベルでの珪藻に与える除草剤の影響について報告があった。珪藻の繁殖様式から緑藻で用いられる液体培地での試験方法の適用が困難なことから、底面が平面となった 96 穴のポリスチレンマイクロプレート中、modified Csi medium を用いた培養を蛍光照射下に行い、珪藻密度を 680 nm での吸光度から算定する方法で、72 時間での成長阻害試験を設計する事ができた。また、多様な種の内での珪藻が最も試験に適しているかを調査する為に、まず日本の一河川 (桜川、つくば市) 上流 (臼井) 並びに中流域 (君島) から採取されたサンプルから寒天平板培地法により各々 49, 92 種の珪藻を単離した。これらの中で比較的小型の *Nitzschia* spp, *Gomphonema* spp などが比較的簡単に分離可能でかつ採取河川で広く棲息する事が確認できたことから、単一種での試験として *Nitzschia palea* を用いる事が提案され、トリアジン系除草剤を用いた成長阻害試験結果が報告された。また同手法を河川中の石表面に固着した生物層に含まれる珪藻群に適用したところ、上記の単一種での試験と異なり培養初期の成長曲線に time-lag があり、また農薬に対する ErC_{50} 値は、中流域で採取した珪藻群に比べて上流域で採取した珪藻群の方が低いものとなった。今回、提案された珪藻での成長阻害試験は、日本など川の流れが早く、川底での主要棲息種が珪藻群である

場合の農薬の影響評価を行ってゆく上で重要な手法になると考えられた。

S15-4. Recent developments in testing methodologies and risk assessment approaches on honey bees

欧州における農薬の蜂での安全性評価に関して C. Maus 氏 (Bayer CropScience AG, Germany) より発表があった。1990 年以降、仏での蜜蜂のコロニー減少、独などでの越冬数の減少、伊などでの蜂毒性問題などの原因の一つとして農薬散布が取り上げられた。OECD や EPPO が提案する試験法を用いた農薬の蜂に対する安全性評価が行われ、最近では仏 CEB230 に見られるように各国ベースでの特別な評価も始まっている。現在は、Tier 方式で実施される毒性試験結果に基づく毒性-曝露比 (HQ 値) で安全性評価を行っている。毒性試験では、原体・製剤のラボ急性毒性試験が登録上必須であるが、場合に応じて Brood feeding 試験や高次試験として Semifield, Residue, Field 試験が要求される仕組みになっており、適正な評価であると考えられる。

一方、幼虫に対して毒性を有する非昆虫成長調節剤はないものの、現状スキームでは蜂幼虫に対する安全性を評価する試験がない。花粉における農薬残留量の情報がない状況での安全性評価に問題は残るものの、*in vitro* の幼虫毒性試験を semifield/field brood 試験の低次のオプション試験として考えてはどうかとの提案があった。また、現状では急性毒性が認められない農薬に対しては長期毒性が評価される事がないため、ラボ長期試験を semifield 試験の低次試験として位置付けてはどうかとの提案も行われた。加えて、現在の登録用試験では検出できない巣維持、餌探しなどといった生生活動での sublethal effect が蜂コロニーに与える影響を調べる必要もあるのではとの観点から、ラボでの集団学習行動への影響試験 (Proboscis Extension Reflex)、餌を探す際の行動調査のビデオを活用したトンネル試験、親蜂の寿命への影響を見るラボ試験、幼虫の発達に要する時間への影響試験など様々な研究が行われているとの紹介があった。但し、sublethal effect は既存の試験を改良する事で情報を収集することは可能であるが、何が adverse で生態学的に意味があるのかなどの研究が不十分である事、得られた結果をどのようにしてリスク評価に結びつけるかなど今後の研究を待つ必要があることが報告され、既存試験の結果を基に現状では十分な評価が行えるとの見方が大半のことである。

S15-5. Effect of aging on sorption of agrochemicals to soil

W. C. Koskinen 氏 (USDA-ARS, USA) により土壌への吸着現象を、生物による利用可能性 (Bioavailability) と aging による吸着への影響の両観点から研究した報告が行われた。間接的な研究方法として、水溶液や有機溶媒による抽

出法、同位体交換法、バッチ平衡法などが考えられるが、溶媒による抽出割合と bioavailability の相関を見た研究成果の乏しい事、土壌スラリーが現実系を必ずしも反映しない事、脱着ヒステリシスの問題、土壌鉱物表面への吸着の影響、各種分解要因、土壌吸着や bioavailability の時間依存性など多くの懸念点の散見される事が分かっている。一方、直接的な手法としては、植物、ミミズ、土壌微生物等の生物による吸収を測定する方法や特定の農薬を分解する土壌微生物の活用などが想定されるが、時間と費用がかかり現実的でなく、発表者は直接・間接法をうまく組合せ、かつ土壌吸着に対する ageing の影響も同時に評価する手法を提案した。

乾燥土壌に ^{14}C で標識された農薬を添加し、土壌水分を調整した後に 25°C でインキュベートした後、(1) 未抽出土壌、(2) 0.01 M CaCl_2 水溶液で抽出、(3) 水溶性メタノールで抽出の3種の土壌を調整し、各抽出画分、残渣、発生 $^{14}\text{CO}_2$ 量を定量した。一方で、除草剤 atrazine 及び simazine を各々添加した未抽出土壌 (1) を土壌微生物である *Pseudomonas* ADP とインキュベートし、無機化された $^{14}\text{CO}_2$ 量を測定する事で、2種の土壌抽出画分の割合と微生物分解 (bioavailability) との関連性を考察した。尚、見かけ上の土壌吸着係数 (Kapp) を (aq. CH_3OH extract/g soil) / (0.01 M CaCl_2 extract/ml solution) と定義した。その結果、Kapp はインキュベーション時間に正比例して増加することが、2土壌で明確に示された。また、両農薬は時間単位で無機化され、 0.01 M CaCl_2 で抽出される割合が大きい土壌ほど無機化の割合も大きくなる事が示された。従って、両トリアジン系農薬では ageing により吸着度合いが高くなり、水溶液で抽出される画分が土壌微生物で bioavailable であることが示唆された。一方、スルホニルウレア系除草剤である nicosulfuron では、分解の起こる土壌では上記除草剤と同様に時間に応じた吸着係数の上昇が認められたが、分解のない土壌では対応する変化は認められなかった。以上の結果から、農薬の土壌における吸着の時間変化と土壌微生物での bioavailability を支配する要因が非常に複雑であり、今後の更なる研究の必要性が述べられた。

S15-6. NAFTA harmonized guidance for the conduct of pesticide terrestrial field dissipation studies

米国 EPA とカナダ PMRA が協同で作成した NAFTA 圏での新規土壌残留試験 (TFD) の概略について M. A. Corbin 氏 (US EPA, USA) から改訂背景と内容、特色について発表があった。TFD 試験の目的は、農薬の消失経路、残留性、代謝分解物の生成有無とその残留量、地下水や表層水への汚染性などを明確にすることであり、様々な要因が絡み合って現実の残留量が決まる事から、より総合的に圃場での農薬の環境挙動を網羅できるような TFD 試験の設計が望まれていた。1992 年の米国化学会での改訂提案に端を発し、米国 CFR40 §158 Subdivision N (1982), Standard Evaluation Procedure (1989), Rejection rate analysis (1993), Phase 3 technical guidance 並びにカナダ T-1-255 (1987) 等の既存ガイドラインに基づいた新規ガイドライン案が検討され、SAP (Scientific Advisory Panel) での審議、公開質問のプロセスを経て 2006 年に内容が公開された (www.epa.gov/oppefed1/ecorisk_ders/terrestrial_field_dissipation.htm)。圃場に散布された農薬の挙動は、土壌からの揮散、作物への吸収、土壌微生物による分解、化学的な分解、土壌吸着、垂直移行などによって左右されており、農薬の物理化学性、分解性、製剤によって農薬の挙動を左右する主要因が設定できるとの考えから、Conceptual Model Approach が提唱された。登録申請者は規制当局と相談のうえに、剤の特性から基本試験とされる裸地でのリーチングを含めた土壌残留試験に加えてどのような追加試験 (揮散性、溶脱性、作物吸収性、土壌深部でのリーチング等の試験) が必要かを見定めた作業仮説を設計し試験実施を行う必要がある。試験結果は、PRZM (Pesticide Root Zone Model) による予測値との比較が行われ、大きな相違が認められた場合には、モデルの精緻化もしくは追加データの取得によって、現実面での農薬の消長を説明する必要がある。発表の中では、これらの試験概念に加えて、use pattern に沿った製剤使用や灌水管理などの試験設計上の注意、GIS (Geographical Information System) の活用による高残留並びに典型的な残留シナリオを提供する為の試験場所の選択方法、土壌サンプリング並びに分析方法開発上の注意、報告内容の詳細が説明された。

片木敏行 (住友化学 (株) 生物環境科学研究所)