

技術資料

農薬の陸域生態影響に関するリスク評価の現状

内 海 透

住友化学（株）生物環境科学研究所

（平成 21 年 8 月 15 日受付，平成 21 年 10 月 30 日受理）

Keywords: pesticides, risk assessment, terrestrial ecosystems, European Union, US Environmental Protection Agency.

1. は じ め に

農薬の陸域生態系に対する影響のリスク評価は複雑で難解である。この複雑さは、陸域生態系が大気、土壌および水系の各環境媒体が互いに交錯しつつ、多種多様な生物種が共存関係を保ちながら成り立っているためである。加えて、水域と比べて環境媒体としての陸域が非常に不均一であること、ヒトの生活や農業・産業活動といった人為的にかかわりに応じた特有の構造と機能を持つ多様な生態系が混在することなども複雑さを来す要因になっている。さらに、生活環や生活様式、行動パターン、餌の種類、繁殖戦略等々の生態が不明な生物種も少なくなく、これらのことも陸域生態系における農薬のリスク評価を行ううえでの難しさの一因であると考えられる。

本レビューでは、各分野における積極的な研究蓄積に基づいて作成された欧米の陸域生態系に対する農薬の影響評価手法を、シミュレーションモデルも交えて概説・比較することで、その優れた点とともに留意する点を明確にし、日本における規制を考える上で考慮すべき点を提言したい。

2. 欧米における陸域生態影響評価手法の考え方

欧米における現状の評価手法の基本的な考え方は共通しており、各対象生物における毒性ポテンシャルと、推算される暴露濃度を比較・評価するリスクベースの手法である。欧米での評価対象と要求データ¹⁻⁵⁾の一覧を Table 1 に示す。生息種や農業形態、気候風土などの違いを反映し、若干の違いはあるものの、陸域生態系の基盤である植物、植物を支える土壌の機能と栄養循環を保つ土壌生物、餌生物・受粉媒介生物・天敵などとしての役割を担う無脊椎動物、脊椎動物のうち系統分類上最上位に位置づく鳥類や哺乳

類、また、食物や食物連鎖を介した濃縮性も想定した、広範囲の生物分類群が対象である。

また、影響評価は 1 段階ではなく、多段階的に毒性および暴露の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 方式により進める。初期の低次評価（Tier-1）では、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法により実験室で得られる急性および長期の毒性データと、農薬が最も多量に想定区域に移行すると想定した最悪シナリオの環境中予測濃度との比を求め、各規制当局が定めた保守的な許容基準と比較して評価を行う。この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）を実施することになる。高次評価には、実場面での環境挙動の要因を組み込んだ現実的暴露条件下での残毒（Aged residue）試験のような実験室系で行う小規模なものから、屋外にテントを設置しその中で実施するものなど多種多様の試験系がある。また、高次の暴露評価の観点から、様々な環境挙動パラメーターや生物の生息・食性・繁殖の各行動パターン、実場面条件下での化合物の餌中濃度などの情報やデ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もある。

なお、現在 EU において、生態系に対し潜在的に残留性・生物濃縮性・内分泌攪乱作用など深刻なリスクを及ぼす化合物の上市と使用を禁止する一律の基準（cut-off criteria）を、農薬登録規則に導入する提案が EU 議会で採択され、上述の定量的影響評価とは別の新たな基準として各方面に波紋が広がっている。

3. EU での生態影響評価

EU は、陸域生態系評価の体系整備が最も進められている。Fig. 1 が EU の農薬登録大綱の基盤になっている陸域生態系評価の概念図である。環境媒体（compartments）と環

* 〒 665-8555 兵庫県宝塚市高司 4-2-1

E-mail: utsumi@sc.sumitomo-chem.co.jp

© Pesticide Science Society of Japan

Table 1. Data requirements in representative outdoor use patterns in EU and US pesticide registrations

Taxonomic groups			Required data	EU	US
Vertebrates	Birds	Tier-1	Acute: Acute oral study	R	R
			Short term: 5-day dietary study	R	R
			Long term: Reproduction study	CR	R
		Higher tier	Avoidance/Palatability test for bait, granules, treated seeds	CR	NR
			Pen/Cage test	CR	NR
			Wild birds: Field test	CR	CR
	Mammals	Tier-1	Acute: Acute oral study	R	R
			Long term: Reproduction study (or Teratology study)	R	R
		Higher tier	Wild mammals: Acute study	NR	CR
			Pen/Cage test	CR	NR
			Wild mammals: Field test	CR	CR
Invertebrates	Bees	Tier-1	Acute oral study	R	NR
			Acute contact study	R	R
			Bee brood feeding study	CR	NR
		Higher tier	Aged residue test	CR	CR
			Cage/Tunnel test	CR	NR
			Field test	CR	CR
	Other arthropods	Tier-1	Standard laboratory study	R	NR
		Higher tier	Extended laboratory/Aged residue test	CR	NR
			Field test	CR	NR
Soil organisms	Earthworms	Tier-1	Acute: Acute study	R	NR
			Chronic: Reproduction study	CR	NR
		Higher tier	Field test	CR	NR
	Soil non-target	Tier-1	Soil nitrification and carbon mineralization study	R	NR
	micro-organisms	Higher tier	Field test	CR	NR
	Other soil non-target	Tier-1	Collembola/Gamasid mite study	CR	NR
	macro-organisms	Higher tier	Litter bag test	CR	NR
Plants	Non-target plants	Tier-1	Screening data such as phyto-toxicity, Seedling emergence/ Vegetative vigor study	R	R
		Higher tier	Field test	CR	CR

R: Required, CR: Conditionally required, NR: Not required.

境生物 (ecological receptors) との相互関係, および農薬の環境中濃度を考慮したモデルであり, 食物連鎖も加味している。

EUにおいて要求されるデータおよび評価に用いられる各指標¹⁻³⁾はTable 2のとおりである。以降, 各生物群のリスク評価法を以下に概説する。なお, EU登録では, 土壌生物をはじめとする農地内に生息する生物や有用昆虫など農業資材も評価対象で, また, 低次評価の段階から暴露量の精緻化のオプションも示され, 影響評価手法に柔軟性を持たせているのも特徴である。

3.1. 鳥類・哺乳類^{1-3,6)}

3.1.1. Tier-1 評価

各試験の毒性指標 (エンドポイント) と推定理論暴露量 (ETE, Estimated Theoretical Exposure) の比を TER (Toxicity Exposure Ratio: Toxicity endpoint/ETE) として求め, 安全性許容基準値 (Acceptable trigger value) と比較し安全性を評価する。

Tier-1 評価では, 鳥類1種 (コリンウズラ, ニホンウズラあるいはマガモ) の急性経口投与および5日間混餌投与の急性毒性試験データが求められ, それらの試験結果によっては, もう1種の5日間混餌投与試験データが必要と

Table 2. Data requirements in EU pesticide registration (Tier-1) and parameters for exposure/risk

Taxonomic groups	Required data	Endpoints	Parameters for exposure	Parameters for risk
Birds	Acute: Acute oral study	LD ₅₀	ETE	TER
	Short term: 5-day dietary study	LC ₅₀		
	Long term: Reproduction study	NOEC		
Mammals	Acute: Acute oral study	LD ₅₀	ETE	TER
	Long term: Reproduction study (or Teratology study)	NOEL		
Bees	Acute oral and contact study	LD ₅₀	Application rate	HQ
Other arthropods	Standard laboratory study	LR ₅₀	Application rate	HQ
Earthworms	Acute: Acute study	LC ₅₀	PEC soil	TER
	Chronic: Reproduction study	NOEC	PEC soil	TER
Soil non-target micro-organisms	Soil nitrification and carbon mineralization study	NOEC	PEC soil	TER
Other soil non-target macro-organisms	Collembola/Gamasid mite study	NOEC	PEC soil	TER
Non-target plants	Screening data such as phytotoxicity	NOEC	Application rate	TER

ETE: Estimated Theoretical Exposure, TER: Toxicity Exposure Ratio, HQ: Hazard Quotient, PEC soil: Predicted Environmental Concentration in soil.

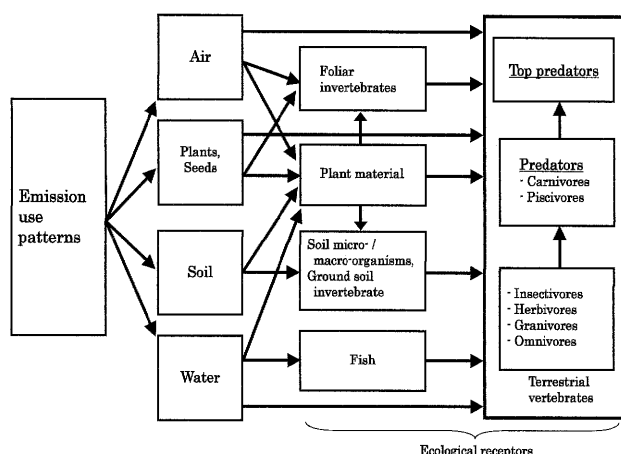


Fig. 1. EU Conceptual model for hazard and risk assessment for the terrestrial ecosystems. Chemicals reach the initial exposed compartment(s) (Air, Plants, Seeds, Soil or Water), distribute in the environment and reach ecological receptors.

なる。農薬の使用方法によって、長期間あるいは繰返しの暴露や、繁殖期の営巣への暴露が否定できない場合は、鳥類1種の繁殖性試験も要求される。また、1シーズンあたり1回のみでの使用でも繁殖期に茎葉散布される農薬の場合は、繁殖性試験が求められる（ただし、農薬が室内で 사용되는場合や、餌中での半減期が14日未満の農薬で秋に散布される場合は、繁殖性試験データは不要）。一方、哺乳類評価では、ヒト健康影響評価のため実施されるラットの急性毒性試験と、2世代繁殖試験など長期試験のデータを使用する。

各試験のエンドポイントは、急性経口投与試験では半数

致死量 (LD₅₀, Lethal Dose 50%), 5日間混餌投与試験（鳥類のみ）では半数致死濃度 (LC₅₀, Lethal Concentration 50%), 繁殖性試験では最大無影響濃度 NOEC (No Observed Effect Concentration) または最大無影響量 NOEL (No Observed Effect Level) である。そのうち、餌中の濃度単位 (mg/kg diet または ppm) で表記される LC₅₀ および NOEC については、摂餌量に基づき体重1kgあたりの1日被験物質摂取量 (Daily Dose: mg/kg b.w./day) に変換して評価に用いる。

EUの暴露ルート (Fig. 2) の考え方は、米国⁷⁾と共通し、暴露の頻度や量が最も高いと想定される経口を最重要経路

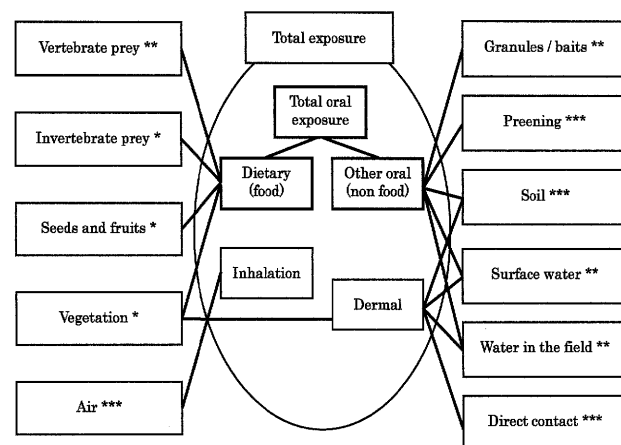


Fig. 2. EU Exposure routes that become relevant according to the kind of product to be assessed. *: covered by the standard scenarios, **: partly covered by non-standard scenarios, ***: no guidance given in EU guidance document.

と位置づけ、餌および飲水の経口暴露シナリオを設定し ETE を求める。

なお、EU には、使用方法（茎葉への液剤スプレー散布、土壌への粒剤散布、種子処理）に応じた暴露シナリオの例示もあるが、ここでは代表的な使用方法である茎葉へのスプレー散布に絞って紹介する。餌に関する ETE は、以下の式で求める。

$$ETE = (FIR/b.w.) \times C \times AV \times PT \times PD$$

- ETE: Estimated theoretical exposure (mg/kg b.w./day)
 - FIR: Food intake rate of indicator species (g fresh weight/day)
 - b.w.: Body weight (g)
 - C: Concentration of compound in fresh diet (mg/kg diet)
- $C = C_0 \times MAF \times f_{twa}$
 - C_0 : Initial concentration after a single application ($C_0 = RUD \times \text{application rate}$)
 RUD: Residue per unit dose
 - MAF: Multiple application factor
 - f_{twa} : Time-weighted-average factor ($f_{twa} = (1 - e^{-kt})/kt$)
 k: $\ln(2)/DT_{50}$ (velocity constant)
 t: Averaging time
- AV: Avoidance factor (0: no avoidance, 1: complete avoidance)
 - PT: Fraction of diet obtained in treated area (0-1)
 - PD: Fraction of food type in diet (0-1)

1 日あたりの餌摂取量 FIR と体重 b.w. は、対象作物およびその生長ステージから、暴露の可能性があると考えられ

る指標種 (indicator species) の初期設定値である。餌中の被験物質濃度 C は、昆虫は Kenaga (1973)⁸⁾ や Fischer ら (1997)⁹⁾ の、植物は Fletcher ら (1994)¹⁰⁾ のデータベースに基づく残留濃度 RUD (Residue per Unit Dose) に農薬の散布量に乗じた値で、複数回散布の場合は、多回散布係数 MAF や時間加重係数 f_{twa} を付加して求める。RUD は、ヘクタールあたり 1 kg の農薬を 1 回散布した直後の残留濃度で、餌となる短草 (Short grass)、種子、昆虫などの初期設定値が規定されている。このように、ETE の計算は、体重あたりの摂餌率 FIR/b.w. に農薬散布後の餌中濃度 C を乗じて求める。忌避係数 AV、散布区域内で摂餌する比率 PT および餌中の餌種類比率 PD は、Tier-1 評価では初期設定値の 1 とする。

飲水に関する ETE は、次の式で求める。

$$ETE = (PEC \text{ drinking water} \times \text{total water ingestion rate})/b.w.$$

- PEC: Predicted environmental concentration
- Total water ingestion rate = $0.059 \times b.w.^{0.67}$ (L/day) : 鳥類の場合
- Total water ingestion rate = $0.099 \times b.w.^{0.90}$ (L/day) : 哺乳類の場合

PEC drinking water には、水辺で暴露される動物の場合は表層水中予想濃度 PEC surface water を、畑などで暴露される動物の場合は葉腋に溜まる散布液からの直接暴露を想定し散布液の 1/5 倍濃度を適用する。1 日あたりの水摂取量 Total ingestion rate の算出は、対象となる Indicator species の体重 (kg) に基づく。

これら餌および飲水を介した場合のリスク評価のシミュ

Table 3. Worked example—Input parameters

		Model-compound X
GAP	Crop applied	Cotton
	Application rate	0.15 kg a.s./ha (equivalent to 0.134 lb a.s./acre)
	Sprayed concentration	150 mg a.s./l
	No. of application	1
	Application interval	Not applicable
Chemical profiles	Kow	100000 converted from Log Kow=5
	Koc	20000
	PEC soil	0.2 mg a.s./kg (initial) or 0.15 mg a.s./kg (3-week TWA)
	PEC surface water	3.2 μ g a.s./l (initial) or 0.78 μ g a.s./l (3-week TWA)
Avian Toxicity	BCF fish (whole body)	1000
	Acute oral LD ₅₀	2000 mg a.s./kg b.w.
	Short-term LC ₅₀	5000 mg a.s./kg diet (equivalent to 850 mg a.s./kg b.w.)
	Long-term NOEC	600 mg a.s./kg diet (equivalent to 70 mg a.s./kg b.w.)

TWA: Time-weighted-average, a.s.: active substance, b.w.: body weight

Table 4. Worked example—EU Tier-1 risk assessment from uptake of contaminated food items

Endpoint	Toxicity (mg a.s./ kg b.w.)	Exposure									Acceptable	
		FIR/b.w.	RUD	Application	MAF	f _{twa}	AV	PD	PT	ETE	TER	trigger of TER
Medium herbivorous birds—300 g b.w.												
Acute: LD ₅₀	2000	0.76	87	0.15	1	—	1	1	1	9.92	201	≧10
Short term: LC ₅₀	850	0.76	40	0.15	1	—	1	1	1	4.56	186	≧10
Long term: NOEC	70	0.76	40	0.15	1	0.53	1	1	1	2.42	28	≧5
Insectivorous birds—10 g b.w.												
Acute: LD ₅₀	2000	1.04	52	0.15	—	—	1	1	1	8.12	246	≧10
Short term: LC ₅₀	850	1.04	29	0.15	—	—	1	1	1	4.52	188	≧10
Long term: NOEC	70	1.04	29	0.15	—	—	1	1	1	4.52	15	≧5

FIR/b.w.: Food intake rate of indicator species/body weight, RUD: Residue per unit dose (the values for herbivore are in “Leafy crop,” those for insectivore are in “small insects”), MAF: Multiple application factor (default of DT₅₀=10 days on vegetation is considered, but not applied for residues in insects), f_{twa} : Time-weighted-average factor (defaults of 3 weeks, DT₅₀ of 10 days are considered, but not applied for residues in insects), AV: Avoidance factor, PD: Fraction of food type in diet, PT: Fraction of diet obtained in treated area, ETE: Estimated Theoretical Exposure, TER: Toxicity Exposure Ratio, TER=Toxicity endpoint/ETE, a.s.: active substance, b.w.: body weight.

レーションモデルを示す。モデル例として用いる仮想物質のインプットパラメーター（施用に関する情報、物化性および毒性情報）を Table 3, 餌暴露ならびに飲水暴露による鳥類での評価例をそれぞれ Table 4 および 5 に示す。

Table 4 および 5 の例では、対象種の中型植食性種および昆虫食性種とも許容基準を上回る TER が示され、餌および飲水を介したリスクは低いケースである。もし、TER が許容基準を下回った場合、例えば餌暴露であれば実際の餌中濃度の実測や、公表文献やデータベースに基づき初期設定値（PD, PT など）の精緻化、実際に暴露されうる対象種の限定などにより暴露軽減が図られる。

3.1.2. 生物濃縮性の評価

生物への濃縮性や蓄積性に関連する主な用語の定義¹¹⁾を以下に示す。

- Bioconcentration（生物濃縮）：化学物質の水中から鰓や体表面を介して生物体内への直接的な濃縮過程を示す。この評価で得られる濃縮性の指標が生物濃縮係数（Bioconcentration factor）である。
- Bioaccumulation（生物蓄積）：上記の Bioconcentration の過程に経口的な餌からの取込み要因をあわせた過程を示す。
- Biomagnification（食物連鎖を介した生物蓄積）：生態系

Table 5. Worked example—EU Tier-1 risk assessment from uptake of contaminated drinking water

Endpoint	Toxicity (mg a.s./kg b.w.)	TWI (l/day)	PEC		ETE	TER	Acceptable trigger of TER
			Surface water (mg/l)	Leaf axis (mg/l)			
Medium herbivorous birds—300 g b.w.							
Acute: LD ₅₀	2000	0.0263	0.0032	—	2.8E-4	7.1E+6	≥10
			—	30	2.63	769	
Insectivorous birds—10 g b.w.							
Acute: LD ₅₀	2000	0.0027	0.0032	—	8.6E-4	2.3E+6	≥10
			—	30	8.1	246	

TWI: Total water ingestion rate, TWI for birds=0.059×b.w.^{0.67} (l/day), TWI for mammals=0.099×b.w.^{0.90} (l/day), PEC surface water: initial PEC value, PEC leaf axis: sprayed concentration×1/5 (dilution factor), ETE: Estimated Theoretical Exposure, TER: Toxicity Exposure Ratio, TER=Toxicity endpoint/ETE, a.s.: active substance, b.w.: body weight.

Table 6. Worked example—EU Tier-1 risk assessments for food chain from earthworm to earthworm-eating birds

Endpoint	Toxicity (mg a.s./kg b.w.)	PEC soil (mg a.s./kg)	BCF ^{a)}	Exposure (mg a.s./kg b.w.)		TER ^{d)}	Acceptable trigger of TER
				Residue level ^{b)}	Residue level to daily dose ^{c)}		
Long-term NOEC	70	0.15	2.50	0.38	0.42	166	≥5

a): Estimated BCF (C worm/C soil)=(0.84+0.01×Kow)/(foc×Koc); foc (organic carbon content of soil=0.02 as default value), b): Estimated residue level in earthworms=3-week TWA PEC soil×BCF, c): Estimated residue level in earthworms to daily dose=3-week TWA PEC soil×BCF×1.1 (100 g bird eating 113 g per day), d): TER: Toxicity Exposure Ratio, TER=Toxicity endpoint/Residue level to daily dose, a.s.: active substance, b.w.: body weight.

の食物連鎖を介した生物蓄積であり、高次の栄養段階で化学物質濃度が上昇する現象を示す。

EUにおいては、生物濃縮性と食物連鎖の懸念から、log-Pow>3の化合物の場合、次の評価が必要である。次の3つの観点から評価を行う。

(1) ミミズを餌とする鳥類・哺乳類の評価

まず、次の式で BCF (Bioconcentration factor) を求める。

$$BCF = (0.84 + 0.01 \times Kow) / (foc \times Koc)$$

- Kow : オクタノール／水分配係数
- foc : 土壌の有機炭素含量 (初期設定値 0.02)
- Koc : 土壌吸着係数

次に、次の式でミミズ中予測濃度 PEC worm を試算する。

$$PEC \text{ worm} = PEC \text{ soil} \times BCF$$

- PEC soil: 3-week TWA PEC soil
- TWA: Time-weighted-average 時間加重平均

最後に、次の式で1日あたりの推定理論暴露量 ETE を求める。

$$ETE = PEC \text{ worm} \times 1.1$$

係数 1.1 は、100 g の鳥が1日あたり 113 g のミミズを食するとの仮定に基づく。哺乳類の場合、係数は 1.4 が適用される (10 g の哺乳類が 14 g のミミズを食するとの仮定)。

試算された ETE と繁殖性試験のエンドポイントとを比較し、TER≥5 であれば許容されるリスクである。

(2) 魚を餌とする鳥類・哺乳類の評価

まず、次の式で魚体中予測濃度 PEC fish を試算する。

$$PEC \text{ fish} = PEC \text{ water} \times BCF$$

- PEC water: 3-week TWA PEC water
- TWA: Time-weighted-average 時間加重平均
- BCF : 魚類濃縮性試験から求まる whole-body BCF

最後に、次の式で1日あたりの推定理論暴露量 ETE を求める。

$$ETE = PEC \text{ fish} \times 0.21$$

係数 0.21 は、1000 g の鳥が1日あたり 206 g の魚を食するとの仮定に基づく。哺乳類の場合、係数は 0.13 が適用される (3000 g の哺乳類が 390 g の魚を食するとの仮定)。

試算された ETE と繁殖性試験のエンドポイントとを比較し、TER≥5 であれば許容されるリスクである。

これらミミズおよび魚を餌とする場合のリスク評価のシミュレーションモデルを示す。モデル例として用いる仮想物質のインプットパラメーターは Table 3, ミミズならびに魚を餌とする鳥類の評価例をそれぞれ Table 6 および 7 に示す。

Table 7. Worked example—EU Tier-1 risk assessments for food chain from fish to fish-eating birds

Endpoint	Toxicity (mg a.s./kg b.w.)	PEC SW (mg a.s./l)	BCF ^{a)}	Exposure (mg a.s./kg b.w.)		TER ^{d)}	Acceptable trigger of TER
				Residue level ^{b)}	Residue level to daily dose ^{c)}		
Long-term NOEC	70	0.78	1000	0.78	0.16	438	≥5

a): Whole-body BCF for fish determined experimentally, b): Estimated residue level in fish=3-week TWA PEC sw×BCF, c): Estimated residue level in fish to daily dose=3-week TWA PEC sw×BCF×0.21 (1000 g bird eating 206 g per day), d): TER: Toxicity Exposure Ratio, TER=Toxicity endpoint / Residue level to daily dose, sw.: surface water, a.s.: active substance, b.w.: body weight.

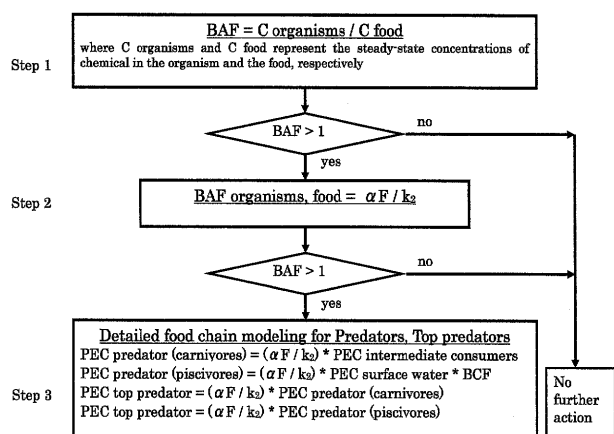


Fig. 3. Stepwise approach for evaluations on bioaccumulation of chemical in terrestrial vertebrates.

Table 6 および 7 の例とも許容基準を上回る TER が示され、ミミズおよび魚を介した 2 次的リスクは低いケースである。もし、TER が許容基準を下回った場合、例えばミミズ BCF の実測や各 PEC の見直しなどにより暴露軽減が図られる。

(3) 食物連鎖を介した生物蓄積性 (biomagnification) の評価

定常状態にある生物体内の残留量 (whole-body residue in an animal at steady state) が餌中の濃度を上回る、すなわち BAF (Bioaccumulation factor) > 1 の場合、食物連鎖を介した生物蓄積性 (biomagnification) の懸念があるとみなされる。そのような特性を有する化合物では、食物連鎖を介して暴露レベルは増し、最上位の捕食者のリスクは特に増すとの概念に基づく。評価は次の Step 1 から Step 3 の順に段階的に行われる (Fig. 3)。

Step 1: ヒト健康影響評価の一環で行われる哺乳動物や鳥類の体内動態運命・残留性試験の試験データから、餌中濃度に対する体内残留濃度の比を BAF として求め、 $BAF \leq 1$ であれば生物濃縮性の懸念は低いとしてさらなる評価は不要で、それ以外は次の Step 2 へ進む。

Step 2: 次の式で food-to-organism BAF を求め、 $BAF \leq 1$ であればさらなる評価は不要で、それ以外は次の Step 3 へ進む。

BAF organisms, food = $\alpha F / k_2$

- α : 経口吸収率
- F: Food intake rate/b.w.
- k_2 : 排泄速度 ($k_2 = \ln(2)/T_{1/2}$) $T_{1/2}$: 排泄半減期

Step 3: 詳細な食物連鎖モデリングの評価を行う。前述 Fig. 1 の右端に示す陸生脊椎動物の食物連鎖を想定し、低次栄養段階の鳥類および哺乳類を捕食する Predators (例: Peregrine falcon, Fox), さらには Top predators (例: Golden eagle, Lynx, Wolf) の定常状態の体内予測濃度を BAF 値と餌動物中濃度から順次求め、その推移から評価する。

3.2. ハチ^{1,2,6)}

閉鎖空間での貯穀用途や受粉媒介生物のいない温室用途などミツバチへの暴露が考えられない限定使用の農薬以外、ミツバチの急性経口および急性接触試験は必須である。リスク評価に用いられる毒性エンドポイントは LD_{50} ($\mu\text{g}/\text{bee}$) で、散布量との比である HQ (Hazard Quotient: 散布量 (g/ha)/ LD_{50}) を算出し、HQ が 50 を下回った場合に安全であると判断される。一方、化合物が IGR (Insect growth regulator) の場合は、ハチ幼虫への影響を評価する Bee brood feeding 試験も必要である。

ミツバチのリスク評価のシミュレーションモデルを Table 8 に示す。Table 8 のモデル例では許容基準を下回る HQ が示され、ミツバチに対するリスクは低いケースである。もし、 $HQ \geq 50$ であれば、高次試験である残毒 (Aged residue) 試験やケージ (Cage) 試験、トンネル (Tunnel) 試験、圃場試験などで安全性を確認する。

3.3. 非標的節足動物 (ハチを除く有用昆虫など)^{1,2,6,12)}

ミツバチと同様、暴露が考えられない限定使用の農薬以外は必須の試験である。実施/評価基準を記した ESCORT2 ガイダンスドキュメント¹²⁾ に従い、農薬の GAP に基づき供試生物種を選択するが、少なくとも標準の 2 種 (*Aphidius rhopalosiphii*: 寄生性ハチの一種, *Typhlodromus pyri*: 捕食性ダニの一種) を用い、ガラス板に農薬を塗布した試験を行い、半数致死散布量である LR_{50} (Lethal Rate 50% g/ha) を求める。得られた LR_{50} を用いて、MAF やドリフト率、植物分布係数、種多様性不確実係数を加味しながら in-field (散布区内) と off-field (散布区外) の HQ (散布量 (g/ha)/ LR_{50}) を算出し、HQ が 2 を下回った場合に安全で

Table 8. Worked example—EU Tier-1 Honeybee assessments

Endpoints	Toxicity (μg a.s./bee)	Application rate (g a.s./ha)	HQ	Acceptable trigger of HQ
Acute oral LD_{50}	75	150	2	<50
Acute contact LD_{50}	>100	150	<1.5	<50

HQ; Hazard Quotient, $HQ = \text{Application rate}/LD_{50}$, a.s.: active substance, b.w.: body weight.

Table 9. Worked example—EU Tier-1 risk assessments for Non-target arthropods other than bee

Species	LR ₅₀ (g a.s./ha)	Application rate (g a.s./ha)	MAF	Drift factor	Vegetation distribution factor	Species diversity correction factor	HQ	Acceptable trigger of HQ
In-field assessments								
<i>Aphidius rhopalosiphi</i>	200	150	1	—	—	—	0.75	<2
<i>Typhlodromus pyri</i>	100	150	1	—	—	—	1.5	<2
Off-field assessments								
<i>Aphidius rhopalosiphi</i>	200	150	1	0.0277	10	10	0.021	<2
<i>Typhlodromus pyri</i>	100	150	1	0.0277	10	10	0.042	<2

In-field HQ=Application rate×MAF/LR₅₀, Off-field HQ=Application rate×MAF×(Drift factor/Vegetation distribution factor)×Species diversity correction factor/LR₅₀, a.s.: active substance, b.w.: body weight.

あると判断される。

リスク評価のシミュレーションモデルを Table 9 に示す。Table 9 のモデル例では許容基準を下回る HQ でリスクは低いケースである。もし、HQ≧2 であれば、供試生物種を増やして*) 高次試験を行う。高次試験では、ガラス板ではなく実際の植物の葉を用いた試験 (Extended laboratory test) や残毒 (Aged residue) 試験、圃場試験などで安全性を確認する。

*) 葉上生息種: *Coccinella septempunctata* : ナナホシテントウ, *Orius laevigatus* : ハナカメムシの一種, *Chrysoperla carnea* : クサカゲロウの一種 など

地上生息種: *Aleochara bilineata* : ハネカクシの一種, *Poecilus cupreus* : オサムシの一種 など

3.4. 土壌生物^{1,2,6)}

土壌施用あるいは土壌が汚染されうる場合には必須である。

3.4.1. ミミズ

まず、OECD 人工土壌を用いた急性毒性試験から LC₅₀ を求め、環境中予想濃度 PEC soil (土深 5 cm, 土密度 1.5) の初期値との比である TER (LC₅₀/initial PEC soil) を算出し、TER≧10 であれば安全であると判断される。もし、TER<10 であれば、長期試験として繁殖性試験が要求される。繁殖性試験はまた、野外の土壌中 DT₉₀>365 日あるいは農薬の使用回数が年 6 回を超える場合は必須、DT₉₀=100~365 日で使用回数 3~6 回では要求される可能性が高く、DT₉₀<100 日かつ使用回数<年 3 回では不要である。長期影響評価も NOEC と initial PEC soil とを比較して TER (NOEC/PEC soil) を算出し、TER が 5 を上回った場合に安全であると判断される。もし、TER<5 であれば、実験室での天然土壌を用いた試験や圃場試験などのオプション

により安全性を確認する。

3.4.2. 土壌微生物

牧草地などから採取した土壌に最大 PEC を想定した試験濃度を施し、炭素量および窒素量の経時推移により微生物の炭素無機化および窒素変換を指標にして、100 日以内に無処理対照区との差が 25% 以内になれば安全であると判断される。

3.4.3. 土壌大型無脊椎動物

野外の土壌中 DT₉₀=100~365 日で、かつ、ミミズ長期 TER<5 あるいは土壌微生物への影響>25% (対 無処理対照区)、しかも有用昆虫の標準試験 HQ≧2 の場合、トビムシ (Collembola: *Folsomia candida*) 繁殖性試験またはダニ (Gamasid soil mite: *Hypoaspis aculeifer*) 試験が必要である。それらから求まる NOEC と PEC soil とを比較して、TER (NOEC/PEC soil) が 5 を上回れば安全であると判断される。

トビムシまたはダニ試験で安全性が確認できない、あるいは、DT₉₀>365 日の場合は、高次試験の一つとして、物質循環への影響を評価する観点から、有機物分解能を指標とした有機物分解試験 (Litter bag test) がある。この試験では、長期使用後に安定水準に達する農薬の土中濃度 (プラトー濃度) をシミュレーションモデルにより求め、そのプラトー濃度を散布した野外圃場に所定量の薬を埋設し、その後 1 週間以内に年間最大量を散布して、薬の減衰量を 6~12 カ月間経時的に無処理対照区と比較しながら評価する。

3.5. 非標的植物^{1,2,6)}

試験要求基準は明確には定められていないが、殺鼠剤や種子処理剤、温室内での施用など暴露が無視しうる場合を除いてデータは求められる。段階的なアプローチが提案されている。除草剤や植物成長調整剤は第 2 段階からである。第 1 段階: 薬効・薬害などの初期評価スクリーニングデータが活用される。分類上異なる少なくとも 6 種

に最高散布量を施したデータが求められる。1 種でも対照区との比較で重量などに 50% 以上の差が認められれば次の段階に進む。

第 2 段階：決定論的アプローチ (Deterministic approach) と確率論的アプローチ (Probabilistic approach) の二つのオプションがある。そのうち通常は前者を用いる。前者では、6~10 種を用いた用量相関性の試験から半数影響散布量である ER_{50} (Effective Rate 50%; g/ha) を求め、通常はスプレードリフト率を考慮した PEC との比から TER (ER_{50}/PEC) を算出し、最も感受性の高い種で $TER \geq 5$ であれば許容されるリスクである。 $TER < 5$ であるなら次の段階に進む。

第 3 段階：野外試験に基づいて、認められた影響の生態学的意義や土壌の機能に及ぼす影響、回復性の見込みを評価する。

3.6. 代謝物の評価²⁾

農薬製剤中の有効成分 (いわゆる親化合物) から環境中で生物学的あるいは非生物学的過程を経て形成される分解物 (代謝物) については、その生成量などを踏まえ、リスク評価する必要がある。しかし、いつも実験データが求められるというわけではなく、土壌代謝試験などで 10% 以上認められた主要代謝物 (major metabolite) は、急性毒性試験などの実験データの取得によってリスク評価を行うが、10% 未満の代謝物 (minor metabolite) は、関連情報を活用して評価することも可能である。

このように整備が進む EU の評価体系において、自然環境、生物および生態系の複雑さ、ならびに生態学的に未解明な点の多さおよびそれに関連した評価の難しさから、現在の評価体系や評価手法などにも様々な問題点を残しており、陸域生態影響評価法のさらなる研究・検討、改良・提

案が図られ続けている。例えば、初期設定値を多用することにより極端に保守的な評価になっている現状の鳥類および哺乳類リスク評価体制を改良するため、対象作物の種類や形態、農薬の使用方法や使用時期および暴露されうる動物種の生態学的な特性をそれぞれ組み合わせた広範囲な評価シナリオ (改訂案) が提案されており、現在審議中である¹³⁾。また、試験要求基準の見直しも図られ、土壌生態系の機能面の試験 (土壌微生物試験、有機物分解試験) が省かれる一方、両生類に対する評価を組み込もうとする動きがある¹⁴⁾。

4. 米 国

米国登録で EPA に要求されるデータ、評価に用いられる各指標および許容基準^{4,5,15-17)} の概要を Table 10 に示す。いずれの生物群も、農薬の使用形態 (Use pattern) や低次試験の結果によって、データ要求が規定される。使用形態のうち、“Terrestrial”、“Aquatic”には次のものが含まれる。

Terrestrial: terrestrial food crop use, terrestrial feed crop use, terrestrial nonfood crop use.

Aquatic: aquatic food crop, aquatic nonfood crop use.

各生物群のリスク評価法を以下に概説する。

4.1. 鳥類・哺乳類^{4,5,15-17)}

農薬の使用形態が “Terrestrial”、“Aquatic”、“Forestry” および “Residential Outdoor” の範疇に入る場合に、鳥類 2 種 (スズメ目 1 種、コリンウズラまたはマガモのいずれか 1 種) の急性経口投与、鳥類 2 種 (コリンウズラ、マガモ) の 5 日間混餌投与および繁殖性の試験データが必要となる。液体製剤の温室での使用や室内使用の場合は、急性経口投与試験のデータは不要である。なお、最新の試験要求基準の改定から、鳴鳥 (Songbirds) へのリスクを直接評価するスズメ目 1 種の急性経口投与試験が求められようになった

Table 10. Data requirements in US EPA pesticide registration (Tier-1) and parameters for exposure/risk

Taxonomic groups	Required data	Endpoints	Parameters for exposure	Parameters for risk	Level of concern
Birds	Acute: Acute oral study	LD_{50}	Dose-based EEC	Dose-based RQ	0.5
	Short term: 5-day dietary study	LC_{50}	Dietary-based EEC	Dietary-based RQ	(0.1 for endangered species)
	Long term: Reproduction study	NOEC			1
Mammals	Acute: Acute oral study	LD_{50}	Dose-based EEC	Dose-based RQ	0.5 (0.1 for endangered species)
	Long term: Reproduction study (or Teratology study)	NOEL	Dietary-based EEC	Dietary-based RQ	1
Bees	Acute contact study	LD_{50}	—	—	$<11 \mu\text{g a.i./bee}$
Non-target plants	Seedling emergence study	NOEC	Application rate, or	—	$<25\%$ adverse effect
	Vegetative vigor study		3 times EEC		

RQ; Risk Quotient, $RQ = EEC$ or Application rate/Toxicity endpoint, EEC; Estimated Environmental Concentration.

Table 11. Worked example—US EPA risk assessment for birds from uptake of contaminated food items

Endpoints	Avian class	Body weight (g)	FIR/b.w.	Adjusted LD ₅₀ (mg a.i./kg b.w.)	EEC (e.g. Short grass)		RQ (e.g. Short grass)		Level of concern
					Dose-based (mg a.i./kg b.w.)	Dietary-based (mg a.i./kg diet)	Dose-based	Dietary-based	
Acute: 2000 mg	Small	20	1.14	1441	36.6	—	0.03	—	0.5 (0.1 endangered species)
LD ₅₀ a.i./kg b.w.	Medium	100	0.65	1834	20.9	—	0.01	—	
	Large	1000	0.29	2591	9.4	—	0.00	—	
Short term: 5000 mg	—	—	—	—	—	32.2	—	0.01	1
LC ₅₀ a.i./kg diet	—	—	—	—	—	32.2	—	0.05	
Long term: 600 mg	—	—	—	—	—	32.2	—	0.05	
NOEC a.i./kg diet	—	—	—	—	—	32.2	—	0.05	

Dose-based RQ=Dose-based EEC/Adjusted LD₅₀, Dietary-based RQ=Dietary based EEC/LC₅₀ or NOEC, a.i.: active ingredient, b.w.: body weight.

(当初、鳴鳥の1種としてハゴロモガラス (Red-winged blackbird) が推奨種と提案されたが、野生種で捕獲する必要がある、また、鳥インフルエンザ禍の問題など取扱い上の難しさもあり、具体名は省かれた)。一方、哺乳類では、ヒト健康影響評価で実施されるラットの急性毒性試験や2世代繁殖試験など長期試験のデータを評価し、その結果次第では野生種を用いた急性毒性試験などが求められることもある。

リスク評価に用いられる鳥類・哺乳類の毒性試験の毒性指標 (エンドポイント) は、急性経口投与試験の LD₅₀、5日間経口投与試験 (鳥類のみ) の LC₅₀、繁殖性試験では NOEC ないし NOEL である。

これらエンドポイントは、環境予想濃度 (EEC, Estimated Environmental Concentration) と比較して RQ (Risk Quotient: EEC or Application rate/Toxicity endpoint) を算出し、基準値 LOC (Level of Concern) との比較を行う。RQ が LOQ を上回った場合は、暴露量の見直しなどリスク軽減策を講じ、それにおいても安全性を示せない場合は、野外試験などさらなる試験が必要となる。

米国にも処理方法の違い (茎葉への液剤スプレー散布、土壌への粒剤散布、種子処理) に応じた評価シナリオがある。ここでは茎葉へのスプレー散布の場合について述べる。急性経口評価においては、小型、中型および大型の各体重サイズ別に補正された短草や種子、昆虫などの餌中残留量 Dose-based EEC と、毒性エンドポイントを各体重サイズ別に補正した Adjusted LD₅₀ を比較する。短期摂餌および長期影響評価では、各種餌中濃度 Dietary-dosed EEC と、毒性エンドポイント (LC₅₀, NOEC) とを比較する。米国 EPA は、毒性エンドポイントと農薬散布データを入力すると、茎葉へのスプレー散布、土壌への粒剤散布および種子処理それ

ぞれの処理法に対応した EEC と RQ の算出を行えるプログラム “Terrestrial Residue EXposure model (T-REX, updated Version 1.4.1)” を Web 上に公開している¹⁸⁾。

鳥類のリスク評価のシミュレーションモデルを Table 11 に示す。モデル例として用いる仮想物質のインプットパラメーターは Table 3 の値を用いた。

Table 11 の例では、最も残留濃度が高いと考えられる短草 (Short grass) を食した場合でも、小型、中型および大型いずれのサイズの鳥も急性影響の許容基準を下回り、より厳しい基準が設定されている絶滅危惧種への懸念も低いケースである。また、短期および長期影響とも許容基準をクリアしている。もし、RQ が許容基準を超えた場合、例えば実際の餌中濃度の実測や、初期設定値 (餌中半減期など) の精緻化、ラベルによる使用制限などにより、暴露軽減が図られることになる。

4.2. ハチ^{4,5,15-17)}

使用形態が “Terrestrial”, “Forestry” および “Residential Outdoor” の範疇に入る場合、ミツバチの急性接触試験の試験データが必要となる。リスク評価に用いられる毒性エンドポイントは LD₅₀ (μg a.i./bee) で、LD₅₀<11 μg a.i./bee の場合は、以降段階的に高次試験の残毒 (Aged residue) 試験、受粉媒介者の圃場試験が必要となる。

4.3. 非標的陸生植物^{4,5,15-17)}

使用形態が “Terrestrial”, “Aquatic”, “Forestry” および “Residential Outdoor” の範疇に入る場合、まず Tier-1 として実生の出芽試験および生長試験のデータが必要となる。実施用量あるいは EEC レベルの3倍量で試験を行い、無処理対照区の比較で25%以上の毒性影響が認められれば、以降段階的に高次試験の Tier-2 や Tier-3 (圃場) 試験が求められる。

5. 日 本

日本におけるデータ要求¹⁹⁾の対象生物群は鳥類、ミツバチ、天敵昆虫および蚕で、陸域生態系への定量的リスク評価は行われておらず、ハザード評価のみに基づく、製品ラベルへの注意事項によるリスク管理に止まっている。

5.1. 鳥類^{19,20)}

EPA-OPPTS850.2100などを参考に急性経口投与試験を実施し、強い毒性 ($LD_{50} < 300 \text{ mg/kg}$) が認められた場合、OECD205に準じた混餌投与試験を行う。毒性が弱い場合には、注意事項は不要である。

5.2. ミツバチ^{19,20)}

養蜂および受粉用昆虫の双方への影響評価の観点から、ミツバチに対する急性毒性試験（急性経口毒性試験または急性接触毒性試験）を行う。ただし、農薬の剤型や使用方法などから、ミツバチが当該農薬に暴露されるおそれがないと考えられる場合（例：粒剤、倉庫くん蒸剤など施設内でのみ使用）には試験成績の提出は免除される。急性毒性試験の結果、強い毒性が認められる場合には圃場試験が求められる。 LD_{50} 値が $11 \mu\text{g/bee}$ 以上、あるいは農薬登録申請における最高薬量で影響が認められない場合には、注意事項は不要である。

5.3. 天敵昆虫など^{19,20)}

生物農薬としての天敵および土着の天敵への影響評価の観点から試験が求められる。捕食昆虫類（双翅目、半翅目、鞘翅目、脈翅目）、寄生蜂類（膜翅目）、クモ目、捕食性ダニ類（ダニ目）から2目3種以上を供試生物として選択し、農薬登録申請における最高薬量で急性毒性試験を行う。急性毒性試験の結果、強い毒性が認められる場合は圃場試験が求められる。毒性が弱い場合には、注意事項は不要である。

5.4. 蚕^{19,20)}

農薬登録申請における最高薬量を散布し、風乾した後の桑葉を給餌する急性経口毒性試験を行う。ただし、農薬の剤型や使用方法などから蚕が桑葉を摂取することなどにより、当該農薬に暴露されるおそれがないと認められる場合（例：粒剤、倉庫くん蒸剤など施設内でのみ使用）には試験成績の提出は免除される。急性毒性試験の結果、強い毒性が認められる場合は、農薬処理後所定の日数を経過した葉を給餌する残毒試験を行う。蚕影響試験成績の結果、毒性が弱い場合には、注意事項は不要である。

6. お わ り に

以上のように、欧米における農薬の陸域生態影響評価には、①ヒトの生活環境に限らず、生態系全体にとって重要な役割を担う生物分類群を対象として、その評価結果に基づいて生態系全体への影響を推定する、②暴露予想濃度と

毒性指標とを比較するリスクベースの評価を行う、③段階的なリスク評価を認める、といった3つの共通点がある。一方で欧米間には、法規制に加え、農業形態や気候風土の違いなどを反映して、暴露量算出法や評価対象種に違いがある。日本では、現時点で、陸域生態系リスクに対する評価と管理はハザードの把握をベースに行われている。しかし、21世紀環境立国戦略において、農業については、水域のみならず陸域の生態系へのリスク評価・管理も含めた対策を推進することとされ²¹⁾、毒性試験ガイドラインの作成および検証、詳細な暴露評価モデルの作成ならびにリスク評価・管理手法の開発および確立をテーマに調査などの事業が計画されている²²⁾。

日本は狭い国土ではあるものの、南北に長いこと農業形態や気候風土は様々である。精緻化の進展もみられる欧米型リスクベースの影響評価手法を参考にしながら、一方で欧米間でも評価対象生物種とその暴露評価法が異なるように、日本でも特有の農業形態や環境条件に応じた評価体系を構築する必要があると考えられる。そのためには、まず地域特性を正確に把握することが重要である。また、守るべき陸域生態系とその生物群集は何なのかを規定するにあたっては、自然生態系における食物連鎖を想定し、蚕やミツバチなど農業資材として重要な有用生物種への影響評価も考慮すべきと考えられる。指標生物種の選定、暴露評価手法の確立および許容基準の設定においては、欧米の評価方法や評価基準との調和も念頭におきつつ、一方で過剰かつ非現実的なシナリオのみが採用されることがないように、野外調査を綿密かつ継続的に行い、農薬の影響の程度を捉えたと共に、生態系の実態と生物群集の自然変動幅を捉え、その結果を評価体系にフィードバックさせることが重要である。さらに、柔軟性をもたせた多段階的評価（Tier方式）の採用も有効であると考えられる。

本稿の執筆に際してご協力頂いた住友化学（株）の片木敏行博士、宮本貢氏に感謝致します。

引 用 文 献

- 1) European Commission: Commission Directive 96/12/EC of 8 March 1996 amending Council Directive 91/414/EEC (1996).
- 2) European Commission: Working Document Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/10329/2002 rev.2 (final) (2002).
- 3) European Commission: Guidance Document on Risk Assessment for Birds and Mammals Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/4145/2002 (2002).
- 4) U.S. Environmental Protection Agency, Federal Register, Vol. 72, No. 207, (2007).
- 5) U.S. Environmental Protection Agency, Code of Federal Regulations, 40 Part 158 (2008).
- 6) European Commission: Council Directive 97/57/EC of 22 September 1997 establishing Annex VI to Directive 91/414/EEC

- (1997).
- 7) U.S. Environmental Protection Agency, “ECOFRAM Terrestrial Draft Report”, (<http://www.epa.gov/oppefed1/ecorisk/terrreport.pdf>), (1999).
 - 8) E. E. Kenaga: “Environmental Quality and Safety,” Academic Press, New York, II, pp. 166–181, 1973.
 - 9) D. L. Fischer, L. M. Bowers and C. V. Lam: Poster presentation at the Society of Environmental Toxicology and Chemistry 18th annual meeting, San Francisco, USA, pp. 147–148 (1997).
 - 10) J. S. Fletcher, J. E. Nellessen and T. G. Pfleeger: *Environ. Toxicol. Chem.*, **13**, 1383–1391, 1994.
 - 11) T. Nishihara, S. Saito and M. Matsuo: “Ecological issues and environmental impact assessment,” ed. by P. N. Cheremisinoff, Gulf publ, pp. 707–741 (1977).
 - 12) M. P. Candolfi, K. L. Barrett, P. J. Campbell, R. Forster, N. Grandy, M. C. Huet, G. Lewis, P. A. Oomen, R. Schmuck and H. Vogt: “Guidance Document on Regulatory Testing and Risk Assessment Procedures for Plant Protection Products with Non-Target Arthropods,” ESCORT2 Workshop (2000).
 - 13) European Food Safety Authority: “Risk Assessment for Birds and Mammals—Revision of Guidance Document under Council Directive 91/414/EEC (SANCO/4145/2000—Final of 25 September 2002) [1]—Scientific Opinion of the Panel on Plant Protection Products and Their Residues (PPR) on the Science behind the Guidance Document on Risk Assessment for Birds and mammals,” The EFSA Journal, 734, pp. 1–181, (http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1211902014630.htm), (2008).
 - 14) European Food Safety Authority: “Opinion of the Scientific Panel on Plant Protection Products and Their Residues (PPR) Related to the Revision of Annexes II and III to Council Directive 91/414/EEC Concerning the Placing of Plant Protection Products on the Market—Ecotoxicological Studies,” The EFSA Journal, 461, pp. 1–44, (http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620770071.htm), (2007).
 - 15) U.S. Environmental Protection Agency, “Hazard Evaluation Division Standard Evaluation Procedure Ecological Risk Assessment, EPA 540/9-85-001,” (1986).
 - 16) U.S. Environmental Protection Agency: “Pesticide Reregistration Rejection Rate Analysis Ecological Effect, EPA 738-R-94-035,” (1994).
 - 17) U.S. Environmental Protection Agency: “Ecological Risk Assessment: Technical Overview,” (http://www.epa.gov/oppefed1/ecorisk_ders/), Last updated on Friday, March 7th (2008).
 - 18) U.S. Environmental Protection Agency: “User’s Guide T-REX Version 1.4.1 (Terrestrial Residue Exposure model),” (<http://www.epa.gov/oppefed1/models/terrestrial/index.htm>), (2008)
 - 19) 農林水産省農産園芸局長：農薬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.
 - 20) 農林水産省生産局生産資材課長：「農薬の登録申請に係る試験成績について」の運用について（平成 13 年 10 月 10 日付け 13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知，一部改正平成 19 年 4 月 2 日 18 消安第 14852 号）2007.
 - 21) 環境省：21 世紀環境立国戦略（平成 19 年 6 月 1 日），（http://www.env.go.jp/guide/info/21c_ens/21c_strategy_070601.pdf）.
 - 22) 環境省：平成 20 年度環境省予算（案）主要新規事業等の概要－農薬による陸域生態リスク評価手法確立調査，（<http://www.env.go.jp/guide/budget/h20/h20-gaiyo-2/124.pdf>）.