

平成 29 年度環境省請負業務

平成 29 年度 農薬の花粉媒介昆虫に対する
環境影響調査業務

報告書

平成 30 年 3 月

国立研究開発法人 国立環境研究所

報告書概要

生物多様性減少の主要因の一つとして生息地の環境悪化があり、とりわけ汚染物質として農薬等の化学物質の影響を評価することは生物多様性保全上の重要課題のひとつとされる。中でもマルハナバチやニホンミツバチなどの野生ハナバチ類（以下、野生ハチ類）においては、植物の花粉や花蜜を介してこれらの化学物質に高濃度で曝露される可能性が高く、農薬が野生ハチ類に及ぼす影響を評価することは国際的にも急務の課題となっている。

本業務では、まず、農薬の毒性評価として、イミダクロプリド、クロチアニジン、フィプロニルを対象に、クロマルハナバチ成虫個体への急性接触・経口毒性の半数致死量(LD₅₀)を算出した。算出されたLD₅₀とこれまでに報告されているセイヨウミツバチのLD₅₀とを比較したところ、農薬の種類によって結果が異なり一貫した傾向は見出されなかった。クロマルハナバチコロニーに対する毒性試験では、フィプロニルを対象に2~200 ppb濃度の花粉を採餌させ、コロニー内の生存状況を調査した。その結果、比較的低濃度の2 ppbであっても、コロニーの繁殖に影響を及ぼすことが明らかになった。ただし、これらは特定の条件における結果であるため、野生ハチ類への毒性について結論づけるには、その他の農薬および野生ハチ種も対象として更なるデータの蓄積が必要となるであろう。また、欧州食品安全機関(EFSA)が提示している農薬リスク評価スキームを整理し、我が国における農薬の使用実態に則した評価手法を検討する上で必要とされる改善点について議論した。

次に、野外における野生ハチ類の曝露実態を把握するために、植物体への農薬残留、そしてそれらが巣へ持ち帰られた際の濃度、および営巣場所の周囲における土地利用状況を調査し、野生ハチ類の農薬曝露リスクについて考察した。本調査では、植物体についてはナスおよび周辺雑草を対象とし、ハチ類はクロマルハナバチ、ニホンミツバチおよびセイヨウミツバチの飼養コロニーを模式的に用いて、合わせて18種類の農薬(イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアクロプリド、チアメトキサム、ニテンピラム、アセタミプリド、フィプロニルおよびその分解産物であるフィプロニルスルホン、フィプロニルスルフィド、フィプロニルデスルフィニルの3化合物、ダイアジノン、MEP、アセフェート、BPMC、ベンフラカルブ、エトフェンプロックス、クロラントラニリプロール)の残留濃度を調査した。マルハナバチを対象とした調査では、ナスの花粉から浸透移行性農薬が検出された。またナス圃場近傍に設置したクロマルハナバチの市販コロニーからはナスから採集されたと見られる花粉が確認された。ミツバチを対象とした調査では、花粉と蜂蜜の間で検出される農薬の種類が異なることが示された。

これら野外調査で検出された農薬の濃度およびその構成について、周辺の土地利用状況との関連性を解析した結果、周辺環境が使用される農薬の組成に一定の影響を及ぼすことが明らかになり、野生ハチ類に対する曝露評価を行う上で、周辺環境も重要な要素の一つであることが示唆された。

Summary

As pollinators, bees are an integral part of crop production systems, where they are directly exposed to crop pesticides or indirectly exposed through pollen, honey, or both. For this reason, there is growing interest in evaluating the impacts of pesticides on bees worldwide, including wild bees; however, few such evaluations of pesticide impacts on wild bees have been conducted under field conditions in Japan.

In this research, we first identified the LD₅₀ of three major pesticides for a native bumble bee, *Bombus ignitus*, through contact and oral acute toxicity tests. Our toxicity test results did not show a trend consistent with equivalent tests on managed European honey bees, *Apis mellifera*. Next, we evaluated effects at the colony level of a common pesticide, fipronil, at concentrations ranging from 2 to 200 ppb. Fipronil hindered colony reproduction even at the lowest tested concentration. However, careful evaluations of other wild bee species in various environments are needed to further evaluate the impacts of pesticides on bee colonies. We also reviewed the exposure risk assessment procedure proposed by the European Food Safety Authority to adapt this scheme to pesticide applications in Japan.

Finally, to evaluate the exposure risks of wild bees *in situ*, we used managed colonies of bumble bees and honey bees and measured the pesticide residues in plants, colonies, pollen, and honey. Bumble bees collected pollen from cultivated eggplants contained negligible pesticide residues. For honey bees, pesticide residues differed between pollen and honey collected by bees, and some pesticides were weakly associated with certain land-use types such as orchards and grasslands. These results indicate the importance of considering surrounding environments when evaluating the risks of pesticide exposure to wild bees.

目 次

報告書概要	1
Summary	2
1. はじめに	4
2. 業務実施情報	5
3. 農薬の生態影響に係る検討調査	6
3-1 調査対象農薬	6
3-2 毒性調査	18
3-2-1 ネオニコチノイド系農薬等及びその他の農薬のうち主要な農薬の野生ハチ類への毒性評価に関する知見の収集	18
3-2-2 野生ハチ類への曝露リスクの考え方	40
3-3 実態調査	44
3-3-1 調査対象とする地域などの抽出	44
3-3-2 野生ハチ類生息実態調査	51
3-3-3 農薬残留実態調査	53
3-3-4 野生ハチ類の生息に影響を及ぼすことが考えられる周辺環境調査	71
3-3-5 周辺環境が農薬の残留組成に及ぼす影響評価に関する統計解析	78
3-4 野生ハチ類への曝露影響に関する考察	85
3-5 参考文献	88
4. 検討会の設置・運営	89
4-1 検討会組織	89
4-2 検討会の経緯	91

別紙 1 EFSA Guidance Document 曝露リスク評価案の抄訳

別紙 2 野外ミツバチ調査における農薬の検出濃度と定量下限値

別紙 2-1 花粉を対象としたネオニコチノイド系農薬の分析結果

別紙 2-2 花粉を対象としたフィプロニルおよびその分解産物の分析結果

別紙 2-3 花粉を対象としたその他の農薬の分析結果

別紙 2-4 蜂蜜を対象としたネオニコチノイド系農薬の分析結果

別紙 2-5 蜂蜜を対象としたフィプロニルおよびその分解産物の分析結果

別紙 2-6 蜂蜜を対象としたその他の農薬の分析結果

1. はじめに

生物多様性からもたらされる酸素生産、気候調節、栄養循環などの生態系サービスは、人間を含めた地球上の生物や生物群集が存続していくために不可欠なものである。しかし、近年、生物多様性は損失の一途を辿り、特に、農薬などの化学物質は、生息地の消失や乱獲とともに生物多様性を脅かす直接的な負の圧力として、問題視されるようになってきた。2010年に愛知県名古屋市で開催された生物多様性条約第10回締約国会議（COP10）において採択された「愛知目標」の個別課題8には、「2020年までに、過剰栄養などによる汚染が、生態系機能と生物多様性に有害とならない水準まで抑えられる。」と明記され、農薬が生物多様性へ及ぼす影響とその対策への取り組みは世界的にも急務の課題となった。我が国においては、愛知目標の達成に向けて「生物多様性国家戦略2012-2020」を打ち立て、「農用地及びその周辺環境の生物多様性を保全・確保できるよう、農薬の生物多様性への影響評価法を開発」することを宣言している。

こうした中、2000年頃から欧米を中心に、飼養ミツバチが越冬できずに消失したり、女王蜂や幼虫を残したまま働き蜂が大量失踪したりする現象、いわゆる蜂群崩壊症候群（Colony Collapse Disorder, CCD）が多数報告されるようになり、その原因の一つとしてネオニコチノイド系農薬が疑われるようになった。次いで、これらの農薬がマルハナバチ等の野生ハナバチ類（以下、野生ハチ類）に対しても深刻な影響を及ぼす恐れがあることが指摘された。ミツバチや野生ハチなどの花粉媒介者は、安定した食糧供給や生態系維持において極めて重要な役割を果たしているため、花粉媒介者の減少は人類の生命・生活を脅かす重大な危機となり得る。

ハチ類に対する農薬影響の一連の報告を受け、欧州食品安全機関（European Food Safety Authority, EFSA）は、2013年にネオニコチノイド系のイミダクロプリド、クロチアニジン、チアメトキサムおよびフェニルピラゾール系のフィプロニルがハチに悪影響を与える可能性を指摘、これに基づき、欧州では上述の4種の農薬を一部使用禁止とする暫定措置を講じた。最終的な使用の判断は本報告書執筆時点では発表されていないものの、それに追随するように、米国とカナダでも、これらの農薬の再評価を実施すると公表している。このような世界的な潮流および国民からの要望を受け、我が国でもハチ類への農薬影響について調査研究を支援・実施してきたものの、農薬の使用実態が欧米と異なること、また土地利用状況などの周辺環境が関連する可能性を考慮すると、現段階では、農薬が野生ハチ類に及ぼす影響について十分な知見が集積できていないと結論づけられた。また、我が国における農薬リスク評価スキームが、技術的にも法的にも十分整備されているとは言い難い。

本事業では、野生ハチ類への農薬による影響評価のための基礎データとして、我が国における在来ハチ類への農薬曝露試験、および各種農薬の花粉・蜂蜜等への残留濃度調査、周辺環境調査を実施し、それらを統合した農薬影響評価を試みるとともに、野生ハチ類に対する農薬リスク評価を実施する際の、今後の課題について提言する。

2. 業務実施情報

① 業務名称

平成 29 年度 農薬の花粉媒介昆虫に対する環境影響調査業務

② 業務の目的

残効性・浸透移行性の高い農薬（具体的にはネオニコチノイド系+フィプロニル。以下「ネオニコチノイド系農薬等」という。）およびその他の農薬の環境中への残留実態及び我が国において野生ハチ類への毒性に関する情報について把握するとともに、環境中のネオニコチノイド系農薬等及びその残留状況が野生ハチ類の生息状況に及ぼす影響を考察し、農薬のリスク管理措置を策定することを目的とする。

③ 業務工期

着手 平成 29 年 4 月 24 日

完了 平成 30 年 3 月 28 日

④ 業務委託者

環境省 水・大気環境局 土壤環境課 農薬環境管理室

⑤ 業務実施機関

国立研究開発法人 国立環境研究所

⑥ 業務担当者

坂本佳子 岸茂樹 池上真木彦 五箇公一

⑦ 分析等関連業務実施者

農薬残留分析：柿沼範洋 仁井田純一 今井麻衣（平成理研株式会社）

花粉同定：藤原愛弓

野外調査補助：永野裕大 栗原良輔

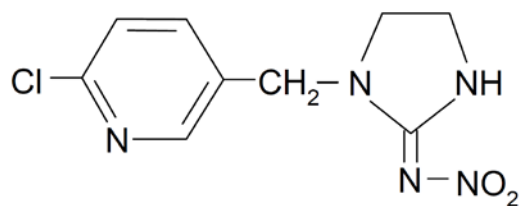
3. 農薬の生態影響に係る検討調査

3-1 調査対象農薬

今回調査対象とした農薬の概要は以下の通りである。

1) ネオニコチノイド系

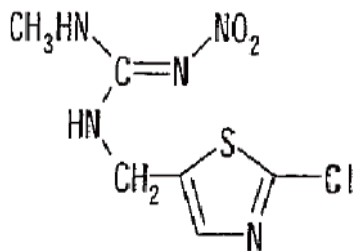
1-1) イミダクロプリド (Imidacloprid)



イミダクロプリドは1992年に登録されたネオニコチノイド系殺虫剤で、高い浸透移行性を有する。本剤はコウチュウ目（イネドロオイムシ）、カメムシ目（カメムシ、ウンカ、ヨコバイ、アブラムシ、コナジラミ）、アザミウマ目、チョウ目（ハモグリガ、ヨトウガ）等に対し殺虫効力を持つなど、広い殺虫スペクトルが特徴である。作用機構としては、ニコチン性アセチルコリン受容体に作用し、神経伝達を遮断するものとされる。安全性評価によれば、人の健康リスクはもとより、生態影響リスクも極めて低い剤とされる。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ48時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀)が85 mg/L、魚類（コイ）96時間急性毒性値（96-h LC₅₀）が170 mg/Lである。本剤の水中光分解性半減期は61分、加水分解性はpH 5やpH 7では安定だが、pH 9でわずかに分解する。土壌吸着係数（K_{oc}）は175.0–376.2と、土壌への吸着性は比較的低い（物理化学的性状及び安全性についての詳細は表3-1-1を参照）。

1-2) クロチアニジン (Clothianidin)

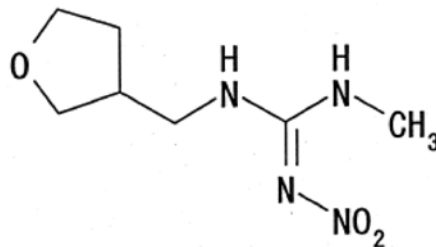


クロチアニジンは2001年に登録されたネオニコチノイド系殺虫剤で、浸透移行性を有し、

散布、育苗箱処理など多様な処理方法が可能である。本剤は幅広い害虫に対して低薬量で卓効を示し、特に吸汁性害虫に高い殺虫活性を示す。薬効は低温度でも発揮され残効も長い。他のネオニコチノイド系殺虫剤と同様、昆虫の神経細胞のニコチン性アセチルコリン受容体に結合して神経伝達を遮断し、昆虫を死に至らしめる。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ 48 時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀) が 40 mg/L、魚類 (コイ) 96 時間急性毒性値 (96-h LC₅₀) が >100 mg/L である。本剤の水中光分解性半減期は 46 – 58 分、加水分解性は pH 9 で半減期が 9 年である。土壌吸着係数(Koc) は 90.0 – 250 と、土壌への吸着性は比較的低い (表 3-1-1)。

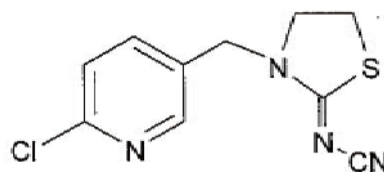
1-3) ジノテフラン (Dinotefuran)



ジノテフランは 2002 年に登録されたネオニコチノイド系殺虫剤で、優れた浸透移行性を有する。カメムシ目を中心とした広範な害虫に防除効果を示し、顕著な吸汁阻害効果が水稲・果樹ともに確認されている。従来のネオニコチノイド系殺虫剤よりもアセチルコリン受容体との親和性が弱いことから、別の作用点の存在も示唆されている。薬剤抵抗性イネドロオイムシや土壌害虫であるキスジノミハムシ等のコウチュウ目害虫に卓越した効果を有し、残効性も高い。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ 48 時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀) が >1000 mg/L、魚類 (コイ) 96 時間急性毒性値 (96-h LC₅₀) が >100 mg/L である。本剤の水中光分解性半減期は 3.8 時間、加水分解性半減期は 1 年以上である。土壌吸着係数(Koc) は 23.3 – 33.6 と、土壌への吸着性は低い (表 3-1-1)。

1-4) チアクロプリド (Thiacloprid)

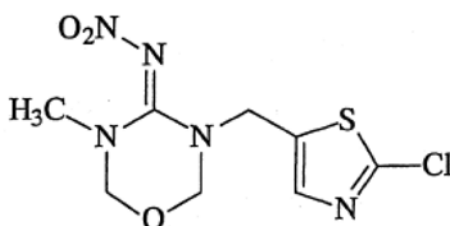


チアクロプリドは 2001 年に登録されたネオニコチノイド系殺虫剤で、浸透移行性を有し、

残効性も高い。本剤はカメムシ目、チョウ目、コウチュウ目に対する活性が高く、ニコチン性アセチルコリン受容体に結合し神経伝達を遮断して殺虫活性を示す。ミツバチやマルハナバチなど花粉媒介昆虫に対して安全性が高く、散布翌日には放飼が可能である。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ 48 時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀) が >85.1 mg/L、魚類(コイ) 96 時間急性毒性値(96-h LC₅₀) が >100 mg/L である。本剤の水中光分解性半減期は 42.5 – 79.7 日、加水分解性は酸性・アルカリ性ともに安定である(表 3-1-1)。

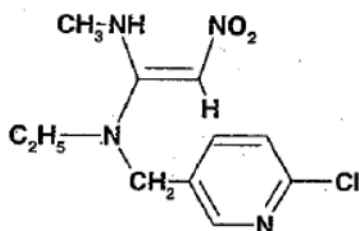
1-5) チアメトキサム (Thiamethoxam)



チアメトキサムは 2000 年に登録されたネオニコチノイド系殺虫剤で、高い浸透移行性および浸達性を有する。本剤は広範な害虫種に効果があり、効果の発現も早く、長い残効性が認められる。他のネオニコチノイド系殺虫剤と同様、昆虫の中樞神経系のニコチン性アセチルコリン受容体に結合し、神経伝達を遮断し、昆虫を死に至らしめる。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ 48 時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀) が >400 mg/L、魚類(コイ) 96 時間急性毒性値(96-h LC₅₀) が >120 mg/L である。本剤の水中光分解性半減期は 4.3 時間、加水分解性半減期は pH 5 や pH 7 では数年だが、pH 9 では 7.3 – 15.6 日である。土壌吸着係数(K_{oc})は 16.4 – 32.0 と、土壌への吸着性は低い(表 3-1-1)。

1-6) ニテンピラム (Nitenpyram)

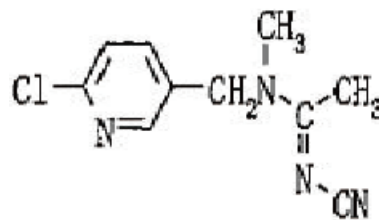


ニテンピラムは 1995 年に登録されたネオニコチノイド系殺虫剤で、浸透移行性を有する。本剤はカメムシ目やアザミウマ目などの吸汁性害虫に高い殺虫活性を示し、低薬量で速効性や残効性に優れている。ニコチン性アセチルコリン受容体に結合し、神経伝達を遮断す

ると推定されている。難防除害虫のマメハモグリバエ、コナカイガラムシ、カメムシ類にも防除効果が認められる。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ 48 時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀) が >100 mg/L、魚類 (コイ) 96 時間急性毒性値 (96-h LC₅₀) が >1,000 mg/L である。本剤の水中光分解性半減期は 24.0–36.2 分、加水分解性半減期は pH 5 や pH 7 では数年だが、pH 9 では 69 日である。土壌吸着係数 (Koc) は 44.6–348 と、土壌への吸着性は比較的低い (表 3-1-1)。

1-7) アセタミプリド (Acetamiprid)

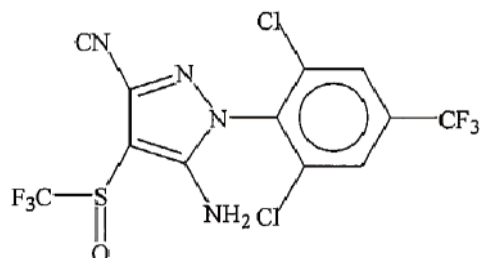


アセタミプリドは 1995 年に登録されたネオニコチノイド系殺虫剤で、高い浸透移行性を有する。本剤はカメムシ目、チョウ目、アザミウマ目、一部のコウチュウ目害虫と幅広い主要な害虫種に優れた効果が認められ、効果の持続時間も長い。昆虫のニコチン性アセチルコリン受容体に結合し、神経伝達の遮断を起こすことで殺虫活性を示すと考えられている。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ 48 時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀) が 49.8 mg/L、魚類 (コイ) 96 時間急性毒性値 (96-h LC₅₀) が >100 mg/L である。本剤の水中光分解性半減期は 20.1 日、加水分解性は pH 4 から pH 7 では安定だが、pH 9.1 では半減期が 812 日 (22 °C)、13.0 日 (45 °C) である。土壌吸着係数 (Koc) は 123–267 と、土壌への吸着性は比較的低い (表 3-1-1)。

2) フェニルピラゾール系

2-1) フィプロニル (Fipronil)



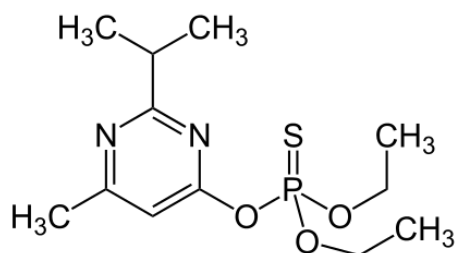
フィプロニルは1996年に登録されたフェニルピラゾール系殺虫剤で、浸透移行性および残効性を有する。本剤はカメムシ目、チョウ目、コウチュウ目、バッタ目など広範囲の害虫に低薬量で有効な殺虫活性を示す。抑制性神経伝達物質であるGABAの受容体に作用し、神経伝達を阻害して致死させる。経口および経皮作用があるが、効果の発現はやや遅効的である。防除困難なコナガに対して優れた効果を発揮する。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ48時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀)が0.19 mg/L、魚類(コイ)96時間急性毒性値(96-h LC₅₀)が0.34 mg/Lである。本剤の水光分解性半減期は61分、加水分解性半減期はpH 9で28日である。環境中で分解され、後述の3種類の分解産物が生じるとされる。土壌吸着係数(Koc)は548-1,720と、土壌への吸着性は比較的高い(表3-1-1)。

フィプロニルは環境中において生物分解及び光加水分解を受け、数種の分解産物を生成することが知られている。本事業の農薬残留実態調査でフィプロニルを調査対象とする場合は、これら分解生成物のうち、フィプロニルスルホン、フィプロニルスルフィド、フィプロニルデスルフィニルの3種も対象とした。これら3種の土壌吸着係(Koc)はそれぞれ1447-6745、1479-7159、669-3976と、フィプロニルよりも土壌吸着性が高い。その他の物性に関する利用可能なデータは限定的であるが、いくつかのデータはフィプロニルと比べてフィプロニルデスルフィニルの残留性がやや高いことを示唆する。また、ある種の節足動物に対して毒性がフィプロニルと同等、もしくはより高いことを示すいくつかのデータがある。

3) 有機リン系

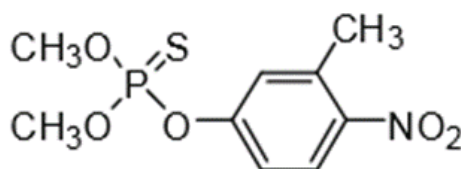
3-1) ダイアジノン (Diazinon)



ダイアジノンは 1955 年に登録された有機リン系殺虫剤であり、農薬としてウンカやツマグロヨコバイ、アブラムシ、シクイムシ、カイガラムシ等をはじめとする広範な害虫に対して使用されるほか、屋内害虫防除用としてハエ、蚊、ゴキブリ、ノミに対しても使用されている。作用機構はコリンエステラーゼ活性の阻害によるもので、興奮伝達物質であるアセチルコリンが分解されないため神経が異常に興奮することによる殺虫作用である。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ 48 時間急性遊泳疎外値 (48-h EC₅₀) が 0.00096 mg/L、魚類 (コイ) 96 時間急性毒性値 (96-h LC₅₀) が 10.5 mg/L である。本剤の水中光分解性半減期は 8.0 日 (滅菌自然水、pH 7.4、32 W/m²、300–400 nm) である。加水分解性半減期は 185 日 (pH 7.4、20° C) である。土壌吸着係数 (K_{oc}) は 400–2500 (水田土壌) となっている (表 3-1-1)。

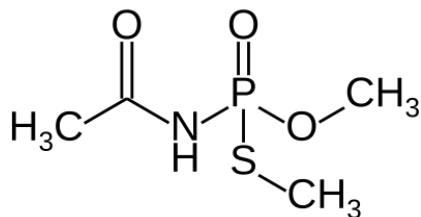
3-2) MEP (フェニトロチオン Fenitrothion)



MEP は 1961 年に登録された有機リン系殺虫剤であり、ニカメイガ、アブラムシ類をはじめとする広範な害虫に対して殺虫効果を示すほか、残効性も有する。人畜毒性が低いことも特徴である。コリンエステラーゼと反応し失活させることで神経伝達をかく乱し、殺虫作用を示す。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ 48 時間急性遊泳阻害値 (48-h EC₅₀) が 0.0086 mg/L、魚類 (コイ) 96 時間急性毒性値 (96-h LC₅₀) が 4.1 mg/L である。本剤の水中光分解性半減期は 1.1 日、加水分解性半減期は pH 7.1 で 57 日である。土壌吸着係数 (K_{oc}) は 816–1935 と、土壌への吸着性は比較的高い (表 3-1-1)。

3-3) アセフェート (Acephate)

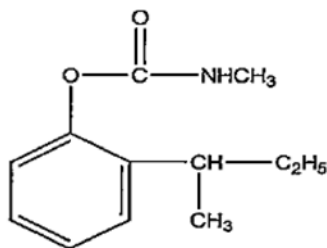


アセフェートは1973年に登録された有機リン系殺虫剤であり、アブラムシ、アザミウマ、コナジラミ、カイガラムシ、カメムシ、ウンカ、チョウ目幼虫、ハムシ、ハバチなど極めて広範囲の害虫に卓越した殺虫効果が認められている。分子量が比較的小さく、水溶性である (>790 g/L、20° C) ため、浸透移行性をもつ。そのため雨による流出や太陽光による分解が少なく、植物体中でも比較的安定しており、残効性が高い。作用機構は有機リン系殺虫剤に共通のコリンエステラーゼ活性の阻害による。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ48時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀)が56.7 μg/L、魚類(コイ)96時間急性毒性値(96-h LC₅₀)が>100 mg/Lである。本剤の水中光分解性半減期は44.8日(河川水、pH 8.1、44 W/m²、300 – 400 nm)である。加水分解性半減期は46.4日(pH 7、21 °C)である。土壌吸着係数(K_{oc})は25.1 – 138となっており、比較的低い(表 3-1-1)。

4) カーバメート系

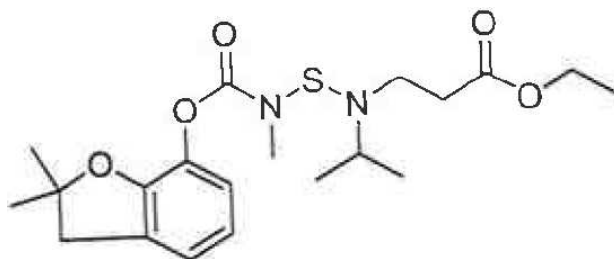
4-1) BPMC (フェノブカルブ Fenobucarb)



BPMCは1968年に登録されたカーバメート系殺虫剤であり、ウンカ・ヨコバイ類に対し即効性を示すことに加え、浸透移行性を有し、イネドロオイムシにも有効である。また、低温時にも殺虫力が低下しないという特長がある。コリンエステラーゼ活性を拮抗的に阻害し神経伝達をかく乱することにより殺虫作用を示す。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ48時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀)が0.0103 mg/L、魚類(コイ)96時間急性毒性値(96-h LC₅₀)が25.4 mg/Lである。本剤は水中光分解が認められず、pH 9以上で速やかに加水分解を受ける。土壌吸着係数(Koc)は147-216と、土壌への吸着性は比較的低い(表 3-1-1)。

4-2) ベンフラカルブ (Benfuracarb)

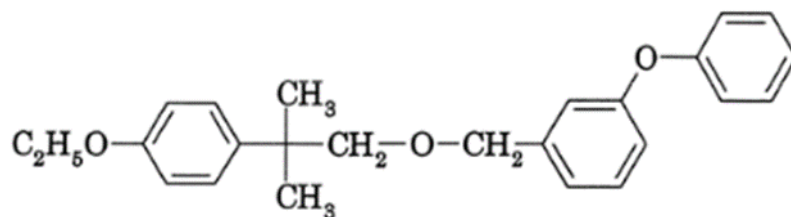


ベンフラカルブは1986年に登録されたカーバメート系殺虫剤で、残効性及び浸透移行性を有し、水稻害虫に対する育苗箱施用や野菜の害虫の防除など幅広い殺虫スペクトルを示す。昆虫体内でカルボフランに代謝され、コリンエステラーゼ阻害作用により殺虫活性を示す。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ48時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀)が0.0099 mg/L、魚類(コイ)96時間急性毒性値(96-h LC₅₀)が0.103 mg/Lである。水中では酸性及び強アルカリ性で不安定であり、水中光分解性は滅菌精製水中で15.3時間、自然水中で15.6日である(表 3-1-1)。

5) ピレスロイド系

5-1) エトフェンプロックス (Etofenprox)

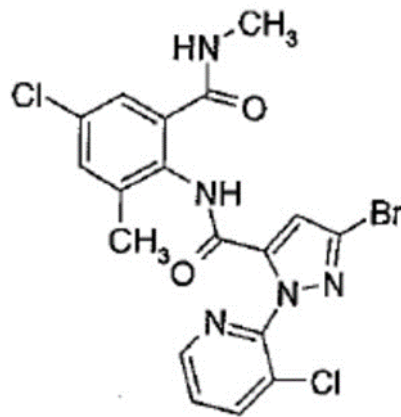


エトフェンプロックスは1987年に登録されたピレスロイド系殺虫剤であり、他の同系統剤と比較して魚毒性が低いことから水田用殺虫剤として使用される。殺虫スペクトルは広く、接触・経口毒性、速効的なノックダウン効果、残効性に加えて、一部の種に対しては忌避作用、吸汁阻害、産卵抑制が認められるなど作用も広範にわたる。殺虫作用は神経軸索への作用による神経の異常興奮によって発現すると考えられる。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ48時間急性遊泳阻害値(48-h EC₅₀)が >40 mg/L、魚類(コイ)96時間急性毒性値(96-h LC₅₀)が0.141 mg/Lである。本剤の水中光分解性半減期は2日、加水分解性半減期はpH 5, 7, 9で1年以上である。土壌吸着係数(K_{oc})は測定不能である(表 3-1-1)。

6) ジアミド系

6-1) クロラントラニプロール (Chlorantraniliprole)



ジアミド系殺虫剤に分類されるクロラントラニプロールは、昆虫の筋細胞内のカルシウムイオンチャンネルに特異的に結合し、筋収縮を引き起こすと考えられている。本剤による作用を受けた昆虫は、結果的に摂食活動を停止し死亡する。本剤による高い殺虫効果を受ける昆虫は、チョウ目とハエ目である。一方、哺乳類、鳥類、魚類、ミツバチ類等にはほとんど影響がないとされる。

室内試験による毒性データについては、オオミジンコ 48 時間急性遊泳阻害値 (48-h EC₅₀) が 11.6 μg/L、魚類 (コイ) 96 時間急性毒性値 (96-h LC₅₀) が >15.0 mg/L である。カルタップと比較してコイへの毒性が低い。本剤の水中分解性半減期は自然水条件で 0.31 日、加水分解半減期は pH 4 - 7 で安定、pH 9 で 10 日である。土壌吸着係数 (K_{oc}) は 100.1 - 526 である (表 3-1-1)。

表3-1-1 調査対象農薬の特性

農薬名 (有効成分)	イミダクロプリド		クロチアニジン		シノテフラン		チアクロプリド		チアメトキサム		ニテンピラム		アセタミプリド		フィプロニル	
	ネオニコチノイド系	1992	ネオニコチノイド系	2001	ネオニコチノイド系	2002	ネオニコチノイド系	2001	ネオニコチノイド系	2000	ネオニコチノイド系	1995	ネオニコチノイド系	1995	フェニルピラゾール系	1996
登録年																
物理化学的性状																
水溶性性 (mg/L)	510 - 610 (20℃)	327 (20℃)	約40,000 (20℃)	185 (20℃)	185 (20℃)	約40,000 (20℃)	185 (20℃)	4,100 (20℃)	4,100 (20℃)	> 590,000 (20℃)	> 590,000 (20℃)	4,250 (25℃)	4,250 (25℃)	3.78 (20℃)		
土壌吸着係数 (Koc)	175 - 376.2 (25℃)	90.0 - 250	23.3 - 33.6	231 - 657	231 - 657	23.3 - 33.6	231 - 657	16.4 - 32.0 (25℃)	16.4 - 32.0 (25℃)	44.6 - 348 (25℃)	44.6 - 348 (25℃)	123 - 267 (25℃)	123 - 267 (25℃)	548 - 1,720 (25℃)		
オクタノール/水分配係数 (log Pow)	0.57 (21℃)	0.7 (25℃)	-0.549 (25℃)	1.26 (20℃)	1.26 (20℃)	-0.549 (25℃)	1.26 (20℃)	-0.13 (25℃)	-0.13 (25℃)	-0.66 (25℃)	-0.66 (25℃)	0.8	0.8	4.0 (20℃)		
加水分解性	pH 9でわずかに分解	半減期9年 (pH9)	半減期1年以上	酸性・アルカリ性で安定	酸性・アルカリ性で安定	半減期1,110 - 1,250日 (pH7)	半減期2,000日 (pH5)	安定 (pH 4.0 - 7.2)	安定 (pH 4.0 - 7.2)	半減期812日 (pH 9.1, 22℃)	半減期1,500日 (pH7)	半減期812日 (pH 9.1, 22℃)	半減期812日 (pH 9.1, 22℃)	半減期約28日 (pH 9)		
水中光分解性半減期	61分 (自然水、25℃)	46 - 58分 (河川水、25℃)	3.88時間 (蒸留水・自然水、25℃)	42.5 - 79.7日 (25℃)	42.5 - 79.7日 (25℃)	3.88時間 (蒸留水・自然水、25℃)	4.3時間 (河川水、pH 7.7)	24.0 - 36.2分 (自然水、25℃)	24.0 - 36.2分 (自然水、25℃)	20.1日 (河川水)	20.1日 (河川水)	61分 (自然水、25℃)	61分 (自然水、25℃)			
安全性																
魚類	170 (コイ)	> 100 (コイ)	> 100 (コイ)	> 100 (コイ)	> 100 (コイ)	> 100 (コイ)	> 100 (コイ)	> 120 (コイ)	> 120 (コイ)	> 1,000 (コイ)	> 1,000 (コイ)	> 100 (コイ)	> 100 (コイ)	0.34 (コイ)		
(mg/L, 96-h LC ₅₀)	211 (ニジマス)	> 100 (ニジマス)	> 100 (ニジマス)	30.5 (ニジマス)	30.5 (ニジマス)	> 100 (ニジマス)	> 100 (ニジマス)	> 100 (ニジマス)	> 100 (ニジマス)	100 (ヒメダカ)	100 (ヒメダカ)	> 100 (コイ)	> 100 (コイ)	0.248 (ニジマス)		
	> 105 (ブルーギル)	> 120 (ブルーギル)	> 100 (ブルーギル)	25.2 (ブルーギル)	25.2 (ブルーギル)	> 100 (ブルーギル)	> 114 (ブルーギル)	> 114 (ブルーギル)	> 114 (ブルーギル)					0.085 (ブルーギル)		
甲殻類	85 (オオミジンコ)	40 (オオミジンコ)	> 1,000 (オオミジンコ)	> 85.1 (オオミジンコ)	> 85.1 (オオミジンコ)	> 1,000 (オオミジンコ)	> 400 (オオミジンコ)	> 400 (オオミジンコ)	> 400 (オオミジンコ)	> 100 (オオミジンコ)	> 100 (オオミジンコ)	49.8 (オオミジンコ)	49.8 (オオミジンコ)	0.19 (オオミジンコ)		
(mg/L, 48-h EC ₅₀)	0.5 - 45 (その他のミジンコ類)															
藻類	> 100 (緑藻)	> 270 (緑藻)	> 100	97 (緑藻)	97 (緑藻)	> 100	> 81.8 (緑藻)	> 81.8 (緑藻)	> 81.8 (緑藻)	0.0406 (緑藻)	0.0406 (緑藻)	> 98.3 (緑藻)	> 98.3 (緑藻)	19 (緑藻)		
(mg/L, 72-h ErC ₅₀)																
底生生物	0.000819 (ユスリカsp.幼虫)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
(mg/L, 48-h LC ₅₀)																
哺乳類	400 (♂)、410 (♀)	> 5,000 (♂♀)	2,804 (♂)、2,000 (♀)	836 (♂)、444 (♀)	836 (♂)、444 (♀)	2,804 (♂)、2,000 (♀)	1,563 (♂♀)	1,563 (♂♀)	1,563 (♂♀)	1,680 (♂)、1,575 (♀)	1,680 (♂)、1,575 (♀)	217 (♂)、146 (♀)	217 (♂)、146 (♀)	92 (♂)、103 (♀)		
(mg/kg, LD ₅₀)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)	(ラット: 経口)		
	100 (♂)、98 (♀)	389 (♂)、465 (♀)	2,450 (♂)、2,275 (♀)	127 (♂)、147 (♀)	127 (♂)、147 (♀)	2,450 (♂)、2,275 (♀)	783 (♂)、964 (♀)	783 (♂)、964 (♀)	783 (♂)、964 (♀)	867 (♂)、1,281 (♀)	867 (♂)、1,281 (♀)	198 (♂)、184 (♀)	198 (♂)、184 (♀)	> 2,000 (♂♀)		
	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(マウス: 経口)	(ラット: 経皮)		
	> 5,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)	> 2,000 (♂♀)		
	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)	(ラット: 経皮)		
鳥類	31 (ニホンウズラ)	> 2,000 (コリンウズラ)	> 2,000 (ニホンウズラ)	49 (ニホンウズラ)	49 (ニホンウズラ)	> 2,000 (ニホンウズラ)	1,552 (コリンウズラ)	1,552 (コリンウズラ)	1,552 (コリンウズラ)	> 2,250 (コリンウズラ)	> 2,250 (コリンウズラ)	180 (コリンウズラ)	180 (コリンウズラ)	11.3 (コリンウズラ)		
(mg/kg, LD ₅₀)				> 2,716 (コリンウズラ)	> 2,716 (コリンウズラ)		576 (マガモ)	576 (マガモ)	576 (マガモ)	1,124 (マガモ)	1,124 (マガモ)	> 2,150 (マガモ)	> 2,150 (マガモ)			

※ 物理化学的性状及び安全データは「農薬ハンドブック2011年版 (日本農薬防除協会2011)」、「水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準 (環境省 2006)」および「IUPAC FOOTPRINT Pesticide Properties Database (Lewis, Tzilivakis 2017)」を用いた。

表3-1-1 (続き)

農薬名 (有効成分)	ダイアジノン	MEP	アセフェート	BPMC	ヘンラカルブ	エトフェンプロックス	クロラントラニプロール
ケミカルクラス	有機リン系	有機リン系	有機リン系	カーバメート系	カーバメート系	ピレスロイド系	ジアミド系
登録年	1955	1961	1973	1968	1986	1987	2009
物理化学的性状							
水溶性性 (mg/L)	55 (25℃)	19.0 (20℃)	>790,000 (20℃)	420 (20℃)	7.74 (20℃)	<0.001 (20℃)	1.023 (20℃)
土壌吸着係数 (Koc)	401 - 2520	816 - 1935	25.1-138	147 - 216 (25℃)	-	測定不能	100.1 - 526
オクタノール/水分配係数 (log Pow)	3.42 (20℃)	3.43 (20℃)	-0.90	2.67 (20℃)	4.22 (25℃)	6.9 (20℃)	2.76
加水分解性	半減期185日 (pH7.4)	半減期57日 (pH 7.1)	半減期46.4日 (pH7)	速やかに分解 (pH 9以上)	酸性及び弱アルカリ性で不安定	半減期1年以上 (pH 5, 7, 9, 25℃)	酸性・中性で安定 アルカリ性で10日
水中光分解性半減期	8.0日 (滅菌自然水)	1.1日 (河川水)	44.8日 (河川水)	認められない	15.3時間 (滅菌精製水) 15.6日 (自然水)	2日(蒸留水・自然水、25℃)	0.31日 (自然水)
安全性							
魚類	10.5(コイ)	4.1(コイ)	>100(コイ)	25.4(コイ)	0.103(コイ)	0.141(コイ)	>15.0(コイ)
(mg/L, 96-h LC ₅₀)	1.1(ニジマス)	1.3(ニジマス)		0.015(ブルーギル)	0.038(ニジマス)		
甲殻類	0.00096(オオミジンコ)	0.0086(オオミジンコ)	0.0567(オオミジンコ)	0.0103(オオミジンコ)	0.0099(オオミジンコ)	>40(オオミジンコ)	0.0116(オオミジンコ)
(mg/L, 48-h EC ₅₀)							
藻類	>1(懸濁)	-	>1000(懸濁)	28.1	>10(懸濁)	>0.15(懸濁)	>2(懸濁)
(mg/L, 72-h ErC ₅₀)							
底生生物							
(mg/L, 48-h LC ₅₀)	-	-	-	-	-	-	-
哺乳類	521(♂), 485(♀)	950(♂), 600(♀)	945(♂), 866(♀)	524(♂), 425(♀)	34(♂), 30(♀)	>42880(♂♀)	>5000(♀)
(mg/kg, LD ₅₀)	(ラット, 経口)	(ラット, 経口)	(ラット, 経口)	(ラット, 経口)	(ラット, 経口)	(ラット, 経口)	(ラット, 経口)
	177(♂), 178(♀)	1,030(♂), 1,040(♀)	>2000	182(♂), 173(♀)	4,000(♂), 1050(♀)	>107,200(♂♀)	>5,000(♂♀)
	(マウス, 経口)	(マウス, 経口)	(ウサギ, 経皮)	(マウス, 経口)	(ラット, 経皮)	(マウス, 経口)	(ラット, 経皮)
	1,666(♂), 876(♀)	890(♂), 1200(♀)	>15	>2000(♂♀)	>2140(♂♀)	>2140(♂♀)	>2140(♂♀)
	(ラット, 経皮)	(ラット, 経皮)	(ラット, 吸入)	(ラット, 経皮)	(ラット, 経皮)	(ラット, 経皮)	(ラット, 経皮)
鳥類	4.3(ヤマドリ)	23.6(ウズラ)	852(ニフトリ)	878(コリンウズラ♀)	24.2(コリンウズラ)		
(mg/kg, LD ₅₀)	2.7(マガモ)	1190(マガモ)	350(マガモ)	226(マガモ♂), 491(同♀)	15.9(マガモ)	>2,000(マガモ)	>2,250(コリンウズラ)
					15.4(キジ)		

3-2 毒性調査

3-2-1 ネオニコチノイド系農薬等及びその他の農薬のうち主要な農薬の野生ハチ類への毒性評価に関する知見の収集

(1) 農薬テストガイドラインおよび OECD のガイドラインの確認

現在国内では、農薬テストガイドラインとして、主に「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 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知）が参照されている。資料中の「ミツバチ影響試験」の項で、以下の 2 つの試験方法が提示されている。

- 1) 急性毒性試験（急性経口毒性試験又は接触毒性試験）を実施する。なお、科学的に妥当であれば、他の試験方法により実施しても差し支えない。
- 2) 急性毒性試験の結果強い毒性が認められる場合には、圃場での影響試験を実施する。

別添資料には具体的な結果の記載例が掲載されており、試験方法については、別の通知（「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（13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知））に詳述されている。

同記述は、OECD による化学物質の毒性試験ガイドライン（OECD, 1998）をもとにしている。この中では、試験目的や対象生物等が区別され、それぞれに具体的な試験方法が提示されており、2017 年 10 月現在で合計 509 のガイドラインが存在する。このうち、ミツバチに関する毒性試験のガイドラインは 4 つあり、成虫の急性経口毒性試験（Honeybees, Acute Oral Toxicity Test, No. 213）、成虫の急性接触毒性試験（Honeybees, Acute Contact Toxicity Test, No. 214）、幼虫の毒性試験（Honey bee (*Apis mellifera*) Larval Toxicity Test, Single Exposure）、成虫の 10 日経口毒性試験（Honeybee, 10-day oral toxicity test）である。これらのうち成虫の急性経口毒性試験および急性接触毒性試験についての概要を以下に記す。

● ミツバチ成虫の急性経口毒性試験

- ・ 通常は 48 時間半数致死量 LD₅₀ を求める。
- ・ 試験終了時までに対照区の死亡率が 10% を超えないこと。
- ・ 試験では、毒性基準つまり予想される LD₅₀ の範囲を含むように設定する必要がある。
- ・ ミツバチは疾病を罹っておらず女王がいる正常なコロニーから採集する。
- ・ 同じ系統を用い、齢期、エサ条件、生理条件等を揃える。
- ・ 実験当日の朝か、または前日の夕方に採集する。
- ・ 溶媒を使った場合には溶媒入り対照区と溶媒なし対照区を設けるのが望ましい。
- ・ 希釈倍数が対数で 2.2 倍を超えない範囲で 5 段階の濃度を設定する。
- ・ 1 容器あたり 10 個体、1 反復として扱う。
- ・ 各濃度において 3 反復以上で実施する。

- ・ 50% ショ糖水溶液をガラス管（50 mm×φ10 - 2 mm）で与える。
 - ・ 各容器あたり、100 - 200 μl を与える。
 - ・ 実験前 2 時間は絶食させること。
 - ・ 溶媒の濃度は 1% 以下が望ましい。
 - ・ 試験物質を含むショ糖溶液は 3 - 4 時間後（最大 6 時間）に取り出し、試験物質を含まないショ糖溶液に変更する。
 - ・ 試験物質を含むショ糖溶液の消費量を調べ、記録する。
 - ・ 実験条件は、全暗、温度 25±2°C、湿度は 50 - 70% とする。
 - ・ 試験を開始した 4 時間後、24 時間後、48 時間後の死亡率を記録する。
 - ・ 24 - 48 時間後に 10% 以上死亡した場合には、96 時間後まで記録する。
 - ・ データ解析では容量反応曲線を描く。
 - ・ その際、対照区のデータを用いてアボット補正を行う。
- ミツバチ成虫の急性接触毒性試験
 - ・ 試験時に、二酸化炭素あるいは窒素で麻酔する。
 - ・ 麻酔した成虫の胸部背面にマイクロアプリーターを用いて 1 μl をつける。
 - ・ 試験後の成虫は容器に戻し、ショ糖溶液を与える。
 - ・ その他の内容は、急性経口毒性試験の内容に準じる。

(2) 野生ハチ類の個体に対する毒性試験

① 試験対象生物

クロマルハナバチ *Bombus ignitus*

クロマルハナバチの市販コロニー（ナチュポールブラック、アリストライフサイエンス）を購入し、巣内から取り出した働き蜂を用いた。

② 試験物質

以下の 3 種を試験物質とした。

- ・ フィプロニル標準物質（純度 98% 以上、和光純薬工業）
- ・ イミダクロプリド標準品（純度 98% 以上、和光純薬工業）
- ・ クロチアニジン標準物質（純度 99% 以上、和光純薬工業）

③ 試験方法

試験方法は、原則 OECD ガイドラインに従った。ただし、マルハナバチの体サイズがミツバチよりも大きいことを考慮する必要があること、また OECD の試験方法よりも精密にデータを採取するため、試験方法を以下のように修正した。試験は 2017 年 11 月 20 日から 12 月 8 日にかけて実施した。

市販コロニーから供試個体を取り出す方法を以下に記す。

外装箱から内部のプラスチックケージを取り出す。透明なビニール袋の中に、ケージと二酸化炭素カセットボンベ（テトラ、容量 9.7 g）2 本を入れる。ハンディクリーナーを用いてビニール袋内の空気を吸い出し、袋を閉じる。カセットボンベから二酸化炭素を噴射する。マルハナバチの動きが弱まったら、ビニール袋からケージを取り出し、蓋を開ける。ピンセットを用いて働き蜂を 10 個体ずつプラスチックカップ（φ 130×100 mm）に取り分け、25℃条件下で試験開始まで維持する。

● 急性接触毒性試験

試験処理区では、試験物質をアセトンに溶解し、5 濃度区の試験液（1000、100、10、1、0.1 ppm）を作成した。対照区として、試験物質を含まないアセトンのみの区および無処理区を設定した。各区で 20 個体を供試した。供試個体が入ったプラスチックカップに二酸化炭素を少量吹込み麻酔した後、ピンセットを用いて 1 個体を取り出した。マイクロピペットを用いて各試験液 10 μl を胸部背面に塗布した（図 3-2-1-1 左）。

プラスチックカップ（φ 86×40 mm）にろ紙（φ 55 mm）を敷き、餌として 50% ショ糖溶液の入った 1.5 ml チューブを入れ、そこへ試験液を塗布した個体を入れて蓋をした（図 3-2-1-1 右）。条件を斉一にするために、140 の供試個体（20 個体×7 区）の試験開始のタイミングは 1 日内となるよう調整した。供試個体が入ったプラスチックカップを全暗条件および 25℃ に設定した恒温器で維持した。24 時間後、48 時間後、72 時間後、96 時間後に恒温器から一時取り出し、各個体の生死を目視で確認し記録した。触覚、腹部、脚のいずれも 5 秒以上動いていないことを確認後、さらにカップを揺すった後も 5 秒以上動きがみられない場合に死亡とみなした。

● 急性経口毒性試験

各試験物質を 5 濃度（10000、1000、100、10、1 ppm）に調整したアセトン溶液を、50% ショ糖液でそれぞれ 100 分の 1 の濃度に希釈し、5 濃度区の試験液（100、10、1、0.1、0.01 ppm）を作製した。対照区として 50% ショ糖溶液のみを与える区、および無処理区を設定した。各区に 20 個体を供試した。供試個体が入ったプラスチックカップに二酸化炭素を少量吹込み麻酔した後、ピンセットを用いて 1 個体を取り出した。マイクロピペットを用いて試験液 10 μl を口器中舌に浸透させるように採餌させた（図 3-2-1-2）。試験液投与後は、急性接触毒性試験と同様の処理を行った。

半数致死量を求める解析においては、まず、対照区において 48 時間後の死亡率が 10% 以下であることを確認した。24、48、72、96 時間後のそれぞれの結果について、統計ソフト R version 3.3.3（R developmental core team 2017）を用いて試験物質濃度を説明変数、死亡率を目的変数としたプロビット法によるロジスティック回帰分析を行った。48 時間後の結果から得られた予測回帰曲線から半数致死量を算出した。

④ 試験結果

● 急性接触毒性試験

48 時間後の半数致死量 (48h-LD₅₀) はフィプロニル、イミダクロプリド、およびクロチアニジンでそれぞれ 53.17 ng (図 3-2-1-3、表 3-2-1-1)、42.73 ng (図 3-2-1-4、表 3-2-1-1)、11.32 ng (図 3-2-1-5、表 3-2-1-1) で、試験した 3 種の農薬中でクロチアニジンが最も低い濃度となった。いずれの試験物質でも 24 時間後から 96 時間後に半数致死濃度が低下した。時間に伴う半数致死量の低下の程度は、フィプロニルとイミダクロプリドで大きく、クロチアニジンで小さかった。

● 急性経口毒性試験

48 時間後の半数致死量 (48h-LD₅₀) は、フィプロニルで 10.87 ng となった (図 3-2-1-6、表 3-2-1-2)。ただし、48 時間後、72 時間後の 1 ppm 濃度区以外では、すべて生存あるいはすべて死亡したため予測信頼区間が計算できなかった。イミダクロプリドおよびクロチアニジンの 48h-LD₅₀ はそれぞれ 287.41 ng (図 3-2-1-7、表 3-2-1-2)、および 10.00 ng (図 3-2-1-8、表 3-2-1-2) となった。急性接触毒性試験の結果と同様に、いずれの試験物質でも時間とともに半数致死量が低下した。低下の度合いはイミダクロプリドで最も大きく、次いでフィプロニル、クロチアニジンとなった。

⑤ 先行研究との比較

これまでにセイヨウミツバチ等に対するネオニコチノイド系農薬およびフィプロニルの毒性試験の結果が公表されており、中でも Sanchez-Bayo and Goka (2014) は、多くの文献から毒性値を収集し、その中央値を算出している。そこで Sanchez-Bayo and Goka (2014) で示されている中央値と本試験結果から得られた値の比較を行った (図 3-2-1-9)。クロチアニジンとフィプロニルの急性接触毒性値および急性経口毒性値 (LD₅₀) は、クロマルハナバチとセイヨウミツバチの間で顕著な差はなかった。しかし、イミダクロプリドの急性経口毒性試験のみで、クロマルハナバチの LD₅₀ は、先行研究で報告されているセイヨウミツバチの LD₅₀ と比較して 22.3 倍高かった。

表 3-2-1-1. 急性接触毒性試験における 24 時間後 (24h)、48 時間後 (48h)、72 時間後 (72h)、96 時間後 (96h) の半数致死量 (ng/bee)

試験物質	24h	48h	72h	96h
フィプロニル	430.86	53.17	16.86	7.23*
イミダクロプリド	737.60	42.73	20.55*	15.67*
クロチアニジン	28.35	11.32	9.64	7.96*

*は対照区で 10%以上の死亡率のため参考値

表 3-2-1-2. 急性経口毒性試験における 24 時間後 (24h)、48 時間後 (48h)、72 時間後 (72h)、96 時間後 (96h) の半数致死量 (ng/bee)

試験物質	24h	48h	72h	96h
フィプロニル	70.44	10.87	7.37	1.71
イミダクロプリド	848.24	287.41	130.30	73.46
クロチアニジン	27.58	10.00	6.93	5.57*

*は対照区で 10%以上の死亡率のため参考値

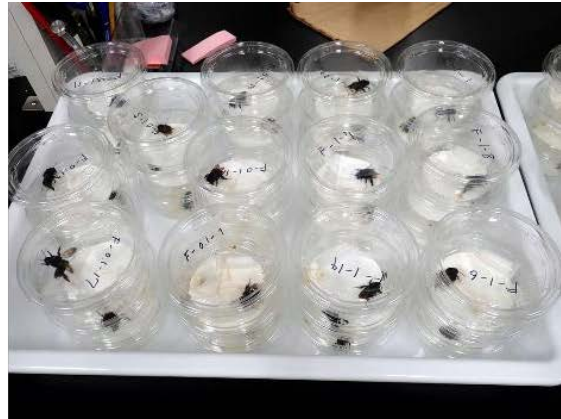


図 3-2-1-1. 急性接触毒性試験において試験液をクロマルハナバチ胸部への塗布する様子 (左)、塗布後の観察用プラスチックカップ (右)

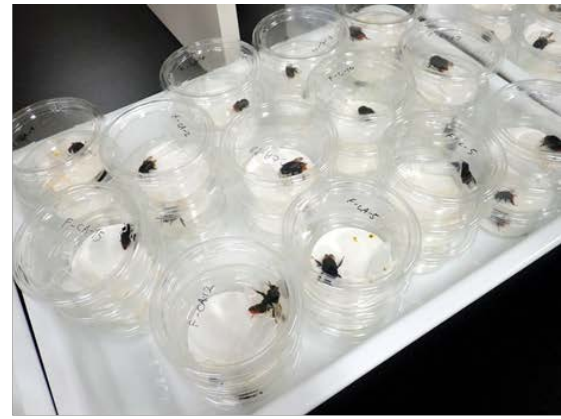


図 3-2-1-2. 急性経口毒性試験において試験液をクロマルハナバチ中舌に浸透させ投与させる様子 (左)、投与後の観察用プラスチックカップ (右)

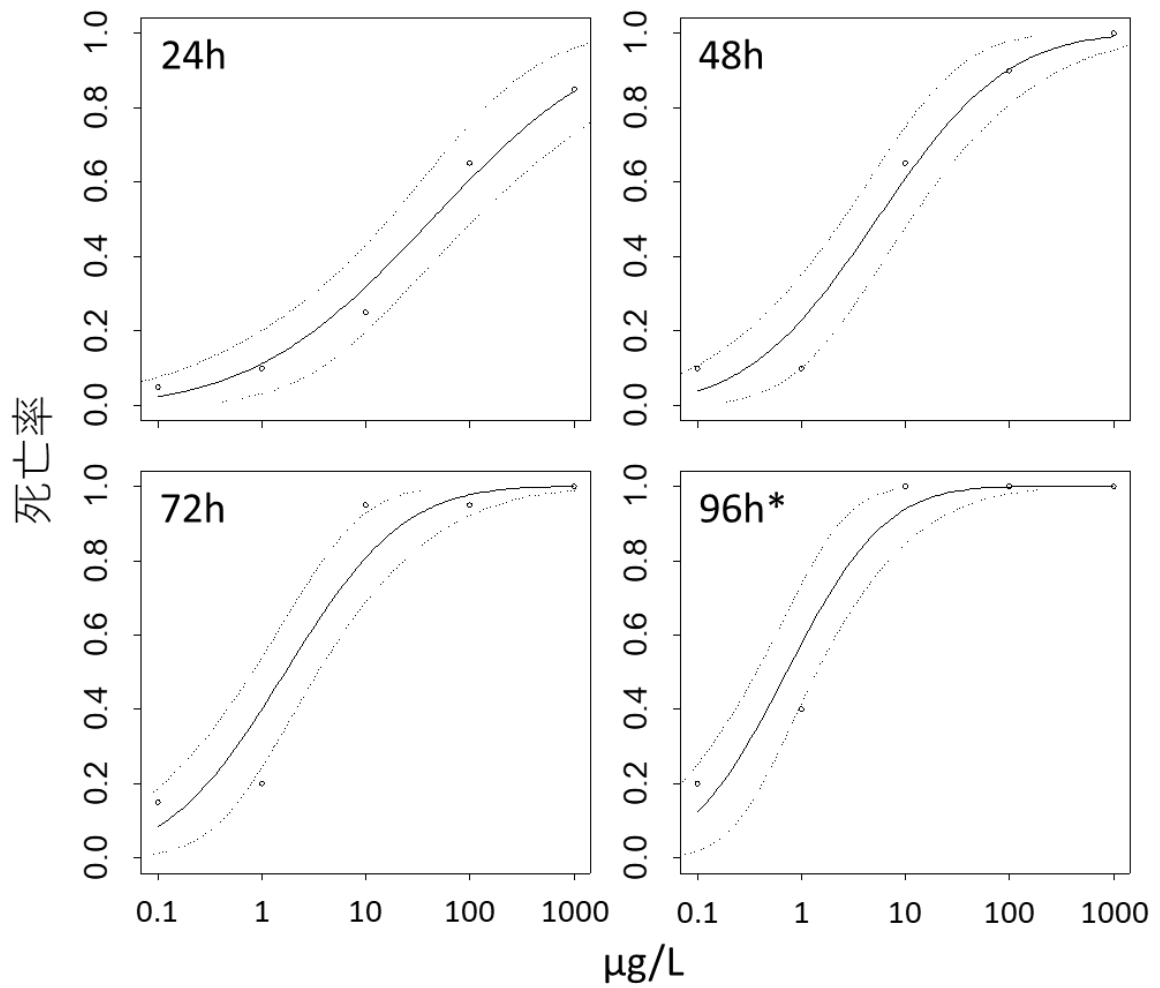


図 3-2-1-3. フィプロニルの急性接触毒性試験における、24 時間後 (24h)、48 時間後 (48h)、72 時間後 (72h)、96 時間後 (96h) の死亡率。*は無処理区あるいはアセトン処理区で 10%以上の死亡率のため参考値。実線はロジスティック回帰分析による予測値、点線はその 95%信頼区間を示す。

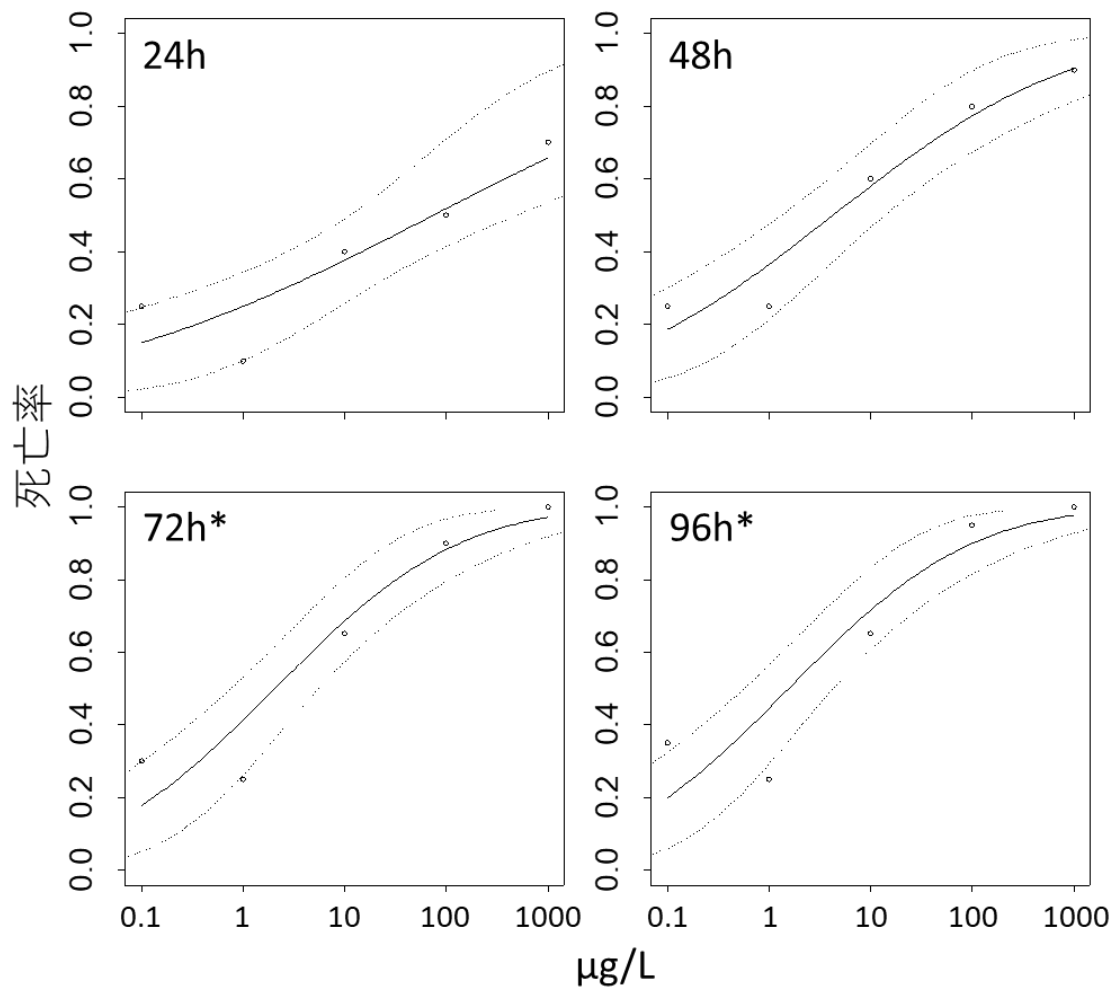


図 3-2-1-4. イミダクロプリドの急性接触毒性試験における、24 時間後 (24h)、48 時間後 (48h)、72 時間後 (72h)、96 時間後 (96h) の死亡率。*は無処理区あるいはアセトン処理区で 10%以上の死亡率のため参考値。実線はロジスティック回帰分析による予測値、点線はその 95%信頼区間を示す。

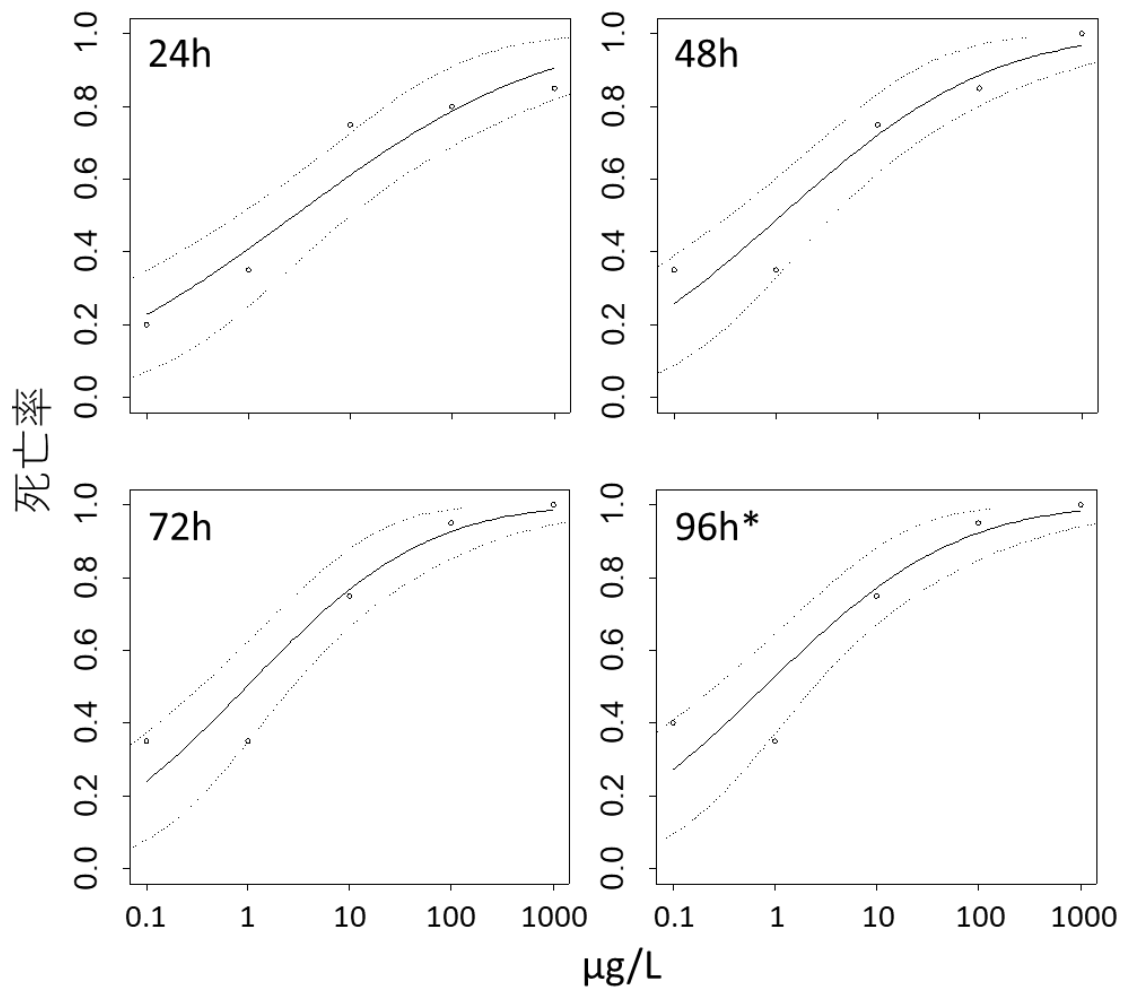


図 3-2-1-5. クロチアニジンの急性接触毒性試験における、24 時間後 (24h)、48 時間後 (48h)、72 時間後 (72h)、96 時間後 (96h) の死亡率。*は無処理区あるいはアセトン処理区で 10%以上の死亡率のため参考値。実線はロジスティック回帰分析による予測値、点線はその 95%信頼区間を示す。

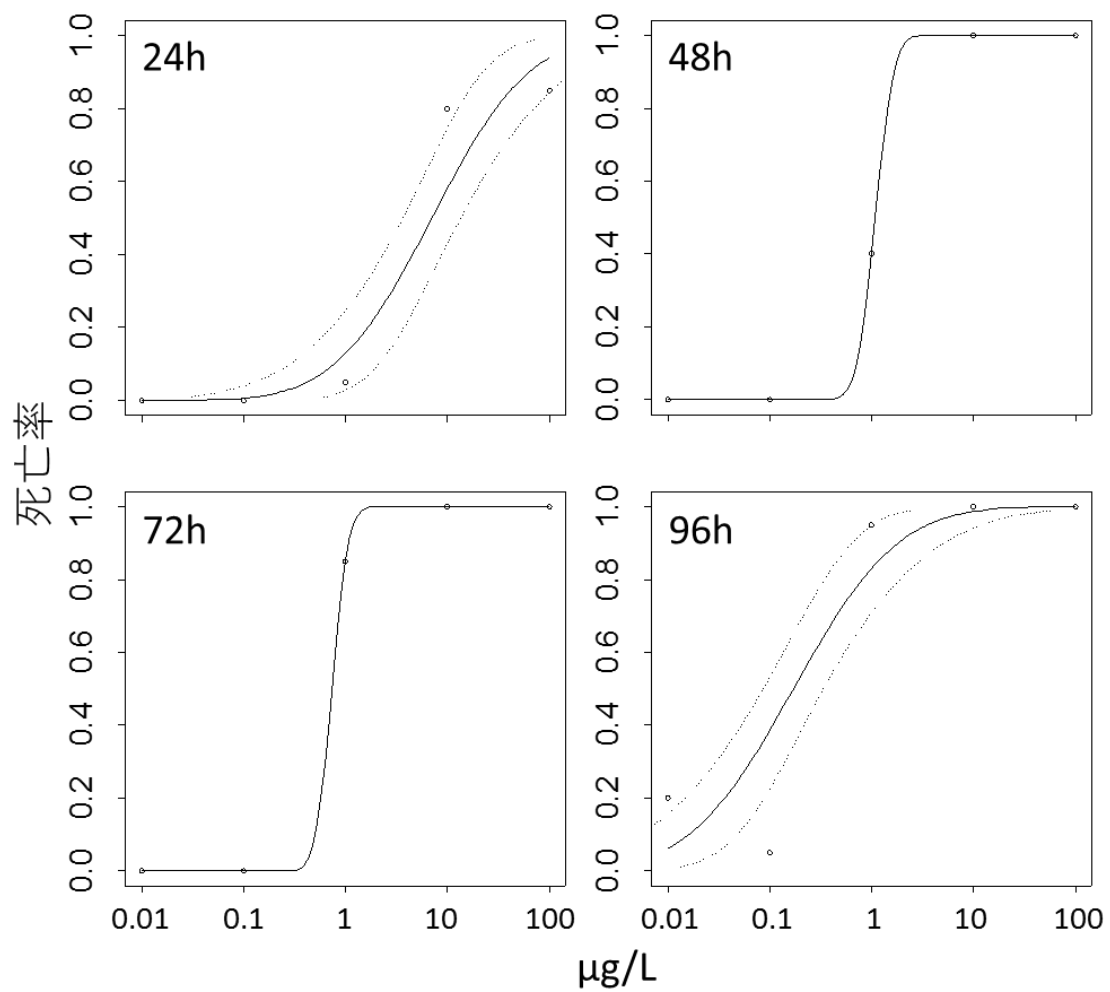


図 3-2-1-6. フィプロニルの急性経口毒性試験における 24 時間後 (24h)、48 時間後 (48h)、72 時間後 (72h)、96 時間後 (96h) の死亡率。実線はロジスティック回帰分析による予測値、点線はその 95%信頼区間を示す。

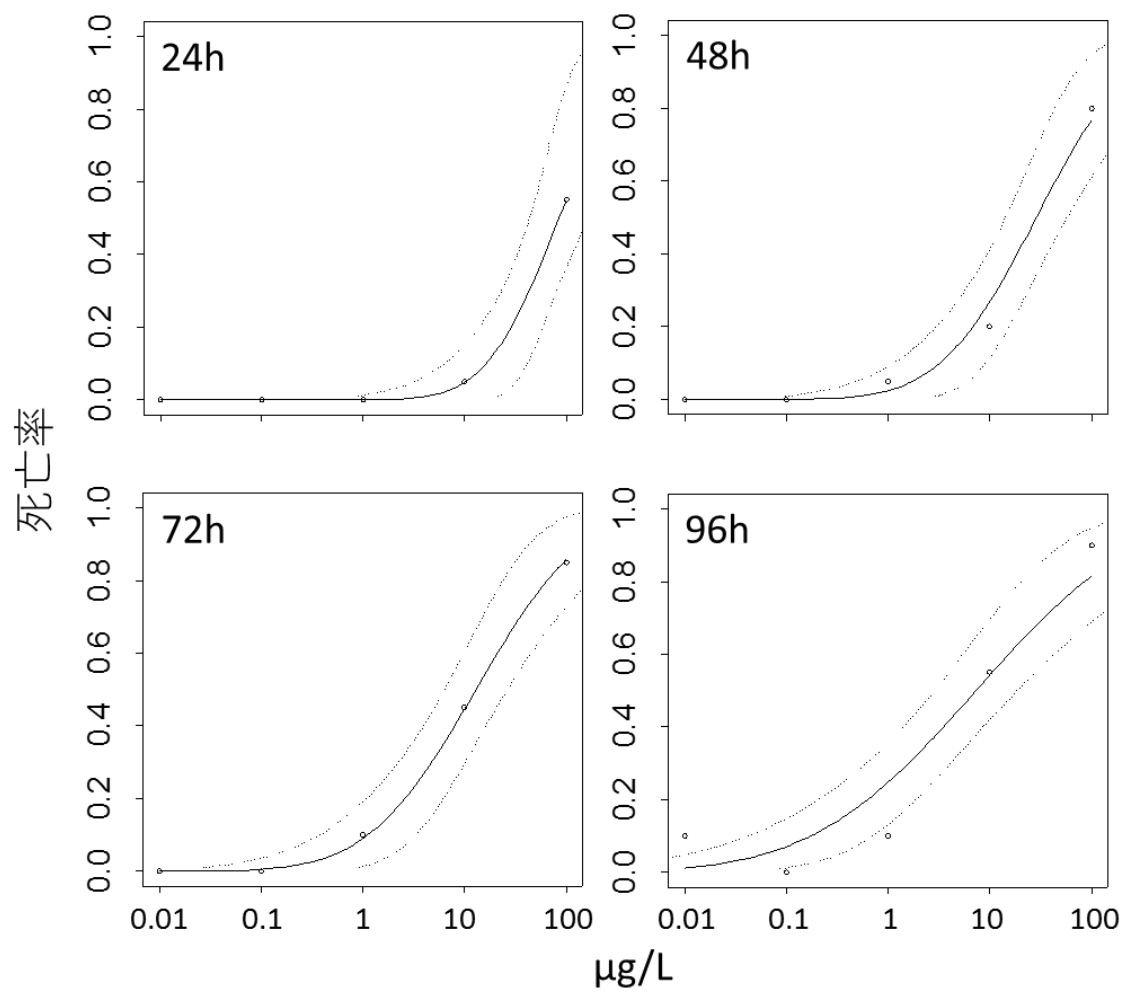


図 3-2-1-7. イミダクロプリドの急性経口毒性試験の 24 時間後 (24h)、48 時間後 (48h)、72 時間後 (72h)、96 時間後 (96h) の死亡率。実線はロジスティック回帰分析による予測値、点線はその 95%信頼区間を示す。

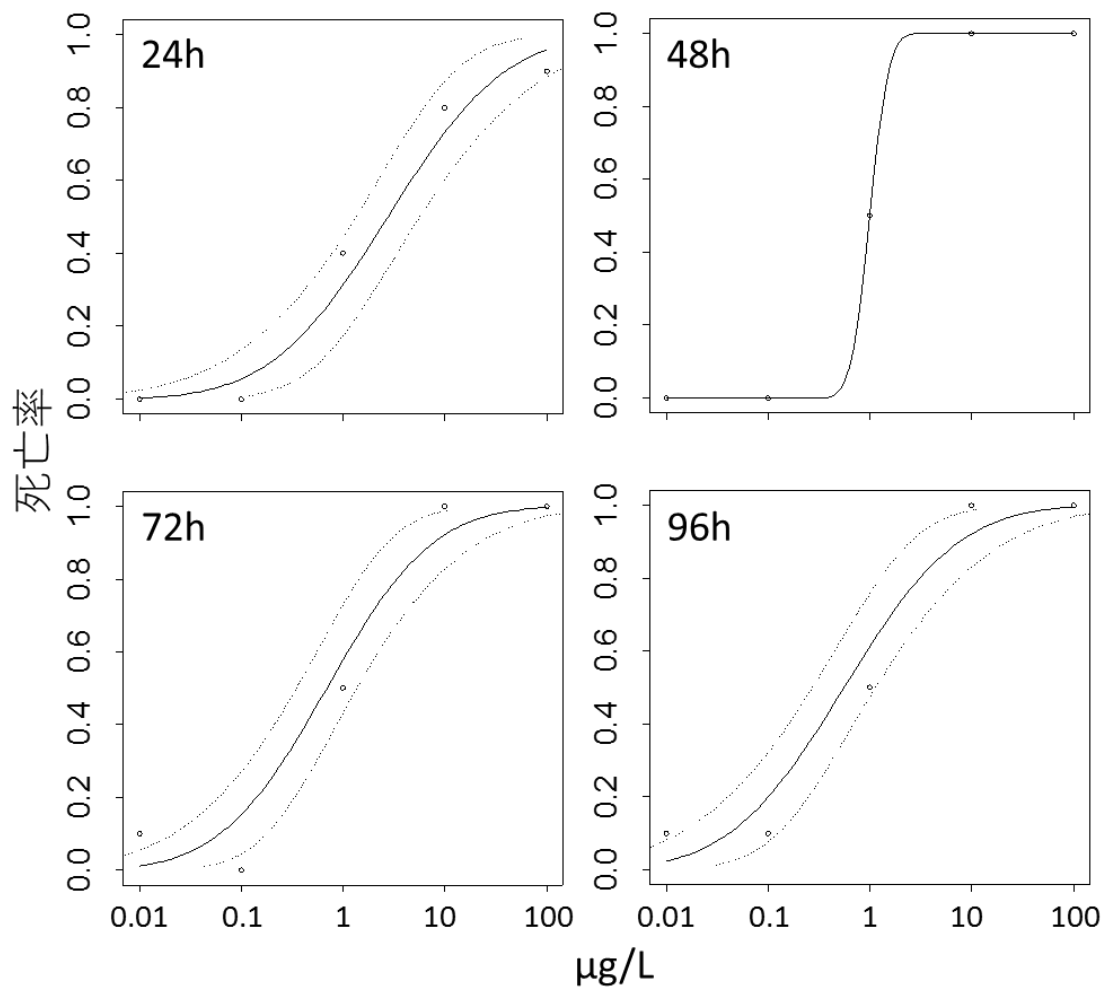


図 3-2-1-8. クロチアニジンの急性経口毒性試験の 24 時間後 (24h)、48 時間後 (48h)、72 時間後 (72h)、96 時間後 (96h) の死亡率。実線はロジスティック回帰分析による予測値、点線はその 95%信頼区間を示す。

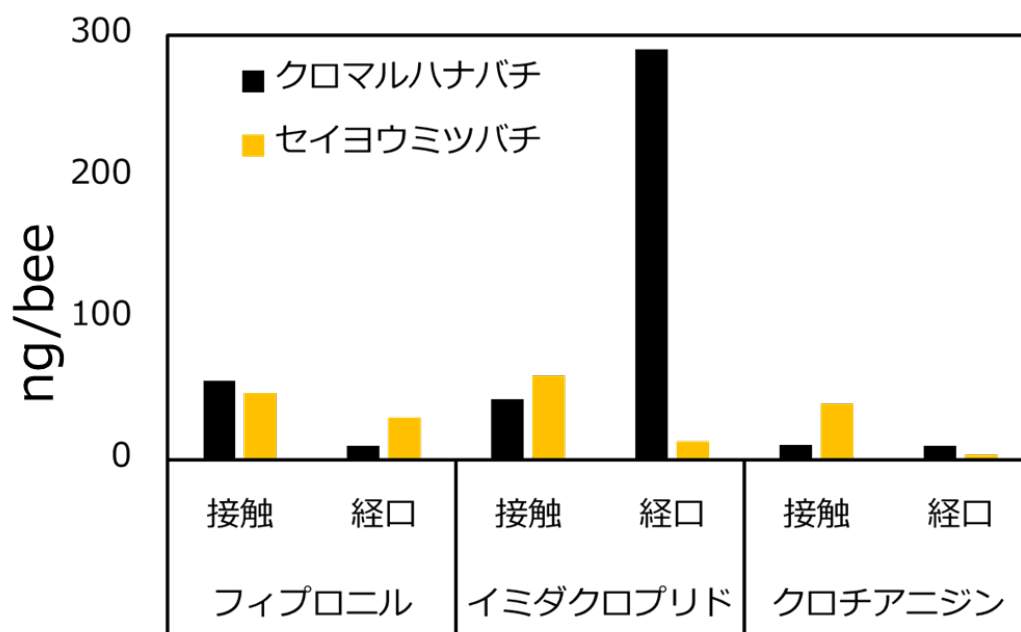


図 3-2-1-9. フィプロニル、イミダクロプリド、クロチアニジンの急性接触・経口毒性試験による 48 時間後の半数致死量の比較。黒色はクロマルハナバチ、黄色はセイヨウミツバチ (Sanchez-Bayo and Goka, 2014) を示す。

(3) 野生ハチ類のコロニーに対する経口毒性試験

本項では、ビニールハウス内に設置したマルハナバチのコロニーに、農薬曝露した花粉を与え、コロニーに対する毒性試験を実施した。

① 試験対象生物

クロマルハナバチ *Bombus ignitus*

クロマルハナバチの市販コロニー（ナチュポールブラック、アリストライフサイエンス）を使用した。

② 試験物質

フィプロニル標準物質（純度 98%以上、和光純薬工業）

③ 試験方法

市販コロニーのコロニーサイズを統一するために、前処理を行った。「(2) 野生ハチ類の個体に対する毒性試験」と同様に、二酸化炭素を用いて麻酔処理を行った。ピンセットを用いて、女王 1 個体と働き蜂 30 個体を取り出し、残りの働き蜂、オス、幼虫、蛹等は除去した。女王は、巣からの移出を防ぐために、解剖用ハサミを用いて翅の半分以上を切り落とした（図 3-2-1-10 左）。試験開始後新たに羽化した働き蜂（以下、新働き蜂）と区別するために、試験開始時に選出した働き蜂（以下、導入働き蜂）30 個体の胸部背面にペイントマーカー（三菱鉛筆）で標識した（図 3-2-1-10 右）。プラスチックケージ内に女王および標識した働き蜂 30 個体を戻し、これを「標準化コロニー」とした。

本試験では、農薬曝露した花粉による経口毒性試験を実施した。花粉は、アリストライフサイエンスから購入した花粉荷を使用した。まず、フィプロニル 10000 ppm 濃度のアセトン溶液を調整し、この溶液 0.5 ml と花粉荷 5 g を、乳鉢と乳棒を用いてよく混合し、フィプロニル 1000 ppm 濃度の花粉（=1000 ppm 花粉）に調整した。希釈用および対照区用として、花粉荷をミキサー（ミルサー、イワタニ）でよく粉砕した花粉パウダーを作製し、1000 ppm 花粉と花粉パウダーを混合することにより、200 ppb 花粉、20 ppb 花粉、2 ppb 花粉の試験餌を作製した。調整した花粉は、3.0 g ずつ量りとり重量を記録した後、アルミホイルに包み、ジッパー付きビニール袋に入れ、冷凍庫（-30 °C）で保管した。試験を開始する約 30 分前に解凍して使用した。

コロニー試験は、国立環境研究所の圃場内に設置している二重扉付ビニールハウス 2 棟（外側：長さ 13.5 m、幅 3.6 m、高さ 2.35 m、内側：長さ 9.0 m、幅 3.6 m、高さ 2.35 m）で行った（図 3-2-1-11 左）。季節の影響を考慮して、試験毎に対照区を設け、2 棟のうち一方を農薬処理区用、もう一方を対照区用とし、処理区で 200 ppb 花粉を与えた試験（200 ppb 試験、以下同様）を 1 回、20 ppb 試験を 2 回、2 ppb 試験を 1 回実施した（表 3-2-1-3）。ハ

ウス 1 棟に対し、上記で準備したコロニー1 つを使用した。コロニーはハウス内中央の台（縦 60 cm、横 60 cm、高さ 60 cm）の上に設置した。地面と接地する足の部分は水を張ったプラスチックカップに入れ、アリなどの地表徘徊性動物の侵入を防止した。コロニーの上部には発泡スチロールと寒冷紗を載せて急激な温度上昇を防いだ。

200 ppb 試験は 5 月 25 日に、1 回目の 20 ppb 試験は 6 月 29 日に、2 ppb 試験は 8 月 3 日に、2 回目の 20 ppb 試験は 9 月 12 日にコロニーを設置し、初日はいずれの条件でも無処理の花粉を与えて餌場を認識させた。コロニー設置の翌日から試験を開始し、試験期間は 4 週間とした。コロニー設置後、試験開始前に 1 回は処理区および対照区の両方で無処理の花粉を与えた。その後、試験を開始し、平日のみ 1 日 1 回、朝 10 時頃に試験餌を与えた。月曜日から木曜日は、滅菌シャーレ（ ϕ 150 mm \times 15 mm、Kord-Valmark）3 枚に対しそれぞれ試験餌を 3 g ずつ（合計 9 g）入れ、ハウス内の 3 ヶ所に吊り下げたプラスチック皿にそれぞれ設置した（図 3-2-1-11 右）。金曜日は 6 g \times 3 シャーレ（合計 18 g）の試験餌を与えた。花粉設置時に、前回の残った花粉をシャーレごと回収し、50 $^{\circ}$ C に設定した乾燥機で 3 日以上乾燥させた後、重量を計測し、1 日当たりの花粉消費量を算出した。

試験期間中、平日のみ 10 時と 14 時の 2 回、コロニーの外に出ている新女王、オス、導入働き蜂、新働き蜂の個体数をそれぞれ記録した。試験終了後、コロニーを回収し、二酸化炭素で麻酔させ、内部の個体をすべて取り出した。創設女王、新女王、導入働き蜂、新働き蜂、オス、蛹、幼虫、卵の生死を区別し、それぞれの個体数を記録した。ハウス内に残留した個体もすべて回収し記録した。

試験終了後、コロニー内にフィプロニルが残留しているかを調べるために、20 ppb 試験 1 回目および 2 回目、2 ppb 試験で使用したコロニーから花粉ポットを採取した。1 コロニーから 2 サンプル、各 5 g 以上を採取し、遮光遠沈管に入れて冷凍庫（-30 $^{\circ}$ C）で一時的保管し、分析機関に送付した。フィプロニルとその分解産物 3 種の残留濃度の分析を行った。

コロニー外へ出た個体数（以下、ハウス内個体数）について、200 ppb 試験の処理区のコロニーでは、試験を開始して約 1 週間後から導入働き蜂が急激に減少し、2 週間後には見られなくなった（図 3-2-1-12 左）。20 ppb 試験の処理区では、導入働き蜂が徐々に減少し、試験終了までにほとんど見られなくなった（図 3-2-1-13 左）。2 ppb 試験の処理区では、導入働き蜂の活動は活発で、試験開始 2 週間後からオスが確認されるようになったが、新働き蜂は見られなかった（図 3-2-1-14 左）。一方でそれぞれの対照区では、導入働き蜂が活発に活動するのに加えて、試験期間の後半から新働き蜂も増加する傾向にあった（図 3-2-1-12 右; 3-2-1-13 右, d; 3-2-1-14 右）。特に 2 ppb 試験の対照区では、後半から新女王が確認された（図 3-2-1-14 右）。

処理区と対照区の花粉の消費量を比較した結果、200 ppb 試験の処理区では、対照区に比べて大きく減少した（図 3-2-1-15）。20 ppb 試験の処理区でも、対照区に比べて減少傾

向が見られ、その減少率は1回目（図 3-2-1-16 左）よりも2回目（図 3-2-1-16 右）でより大きかった。2 ppb 試験では、対照区に比べてむしろ増加した（図 3-2-1-17）。2 ppb 試験の処理区で花粉消費量が高かった要因として、アリ類による持ち去り等が考えられた。

試験終了後にコロニー内における個体の生死を確認した結果、200 ppb 試験の処理区では、創設女王以外のすべての個体が死亡していた（図 3-2-1-18a）。20 ppb 試験の処理区 1 回目・2 回目、および 2 ppb 試験の処理区ではコロニー内の幼虫はすべて死亡、新働き蜂の生産も確認されなかった（図 3-2-1-18b, c, d）。一方、対照区のコロニーでは、いずれも 10 個体以上の幼虫が生存、および約 20 個体の新働き蜂が確認された（図 3-2-1-18）。

花粉ポットに残留したフィプロニルの残留濃度を図 3-2-1-19 に示す。20 ppb 試験 1 回目・2 回目の処理区、および 2 ppb 試験の処理区でフィプロニルが検出された。分解産物は3種のうちフィプロニルスルホンのみが 20 ppb 試験の処理区 1 回目で検出された。一方、対照区では、いずれも検出下限値未満であった。

表 3-2-1-3. コロニーレベル毒性試験の実施時期

試験	月					
	5	6	7	8	9	10
200 ppb						
20 ppb						
2 ppb						



図 3-2-1-10. 翅を切った女王（左）、働き蜂に標識する様子（右）



図 3-2-1-11. ビニールハウス内部（左）、花粉を採餌する働き蜂（右）

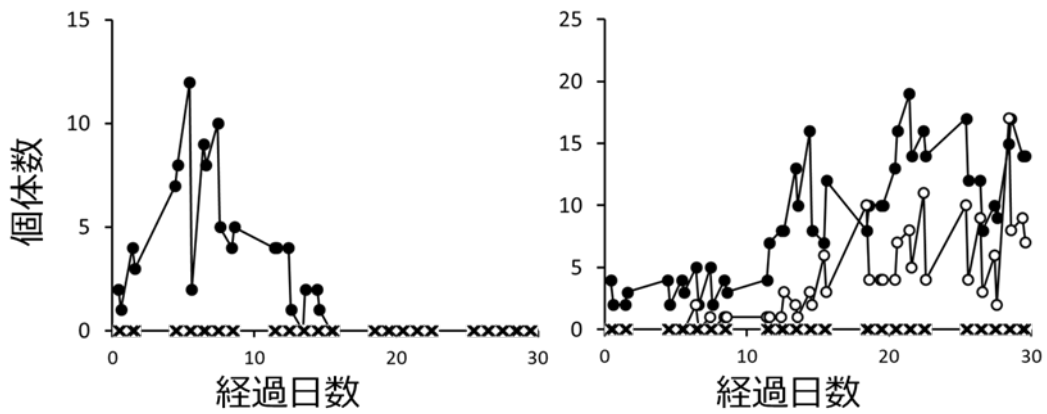


図 3-2-1-12. フィプロニル 200 ppb 試験の処理区 (左) および対照区 (右) のハウス内個体数の推移。新女王 (▲)、導入働き蜂 (●)、新働き蜂 (○)、オス (×)。

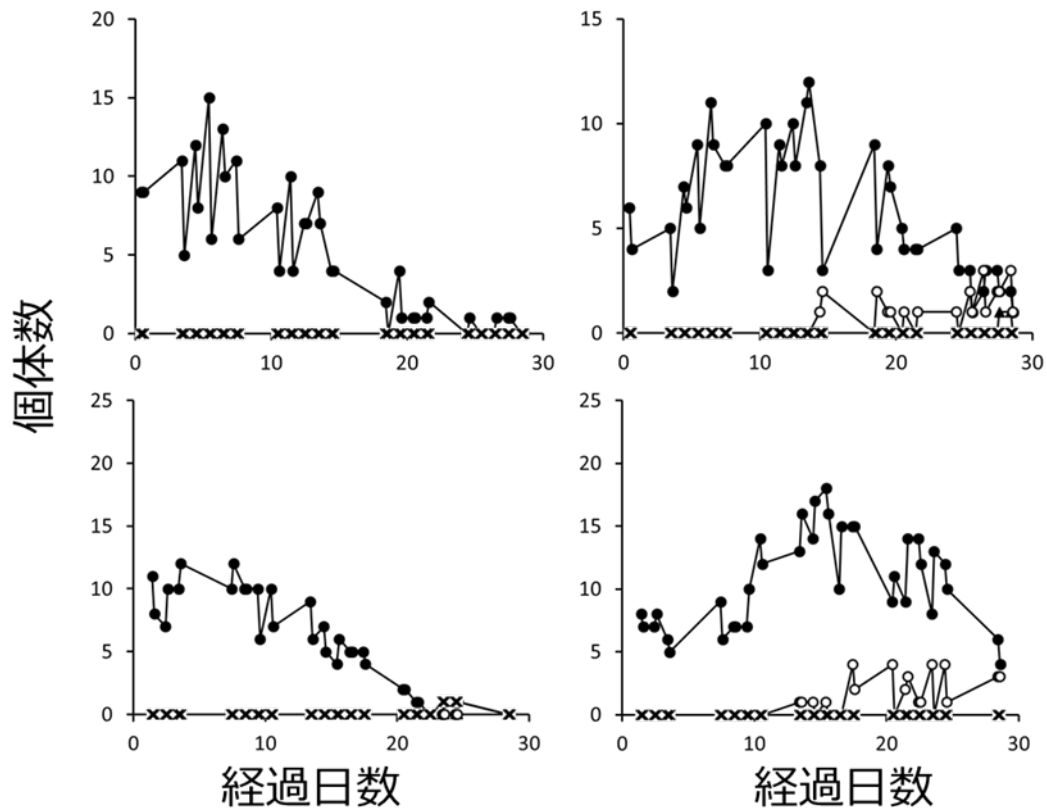


図 3-2-1-13. フィプロニル 20 ppb 試験の 1 回目 (上) および 2 回目 (下) のハウス内個体数の推移。処理区 (左) および対照区 (右) の結果を示す。新女王 (▲)、導入働き蜂 (●)、新働き蜂 (○)、オス (×)。

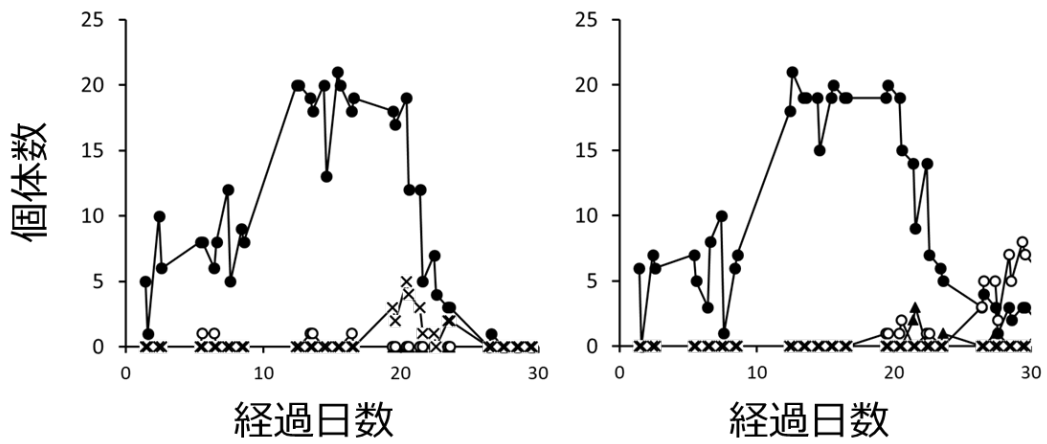


図 3-2-1-14. フィプロニル 2 ppb 試験の処理区 (左) および対照区 (右) のハウス内個体数の推移。新女王 (▲)、導入働き蜂 (●)、新働き蜂 (○)、オス (×)。

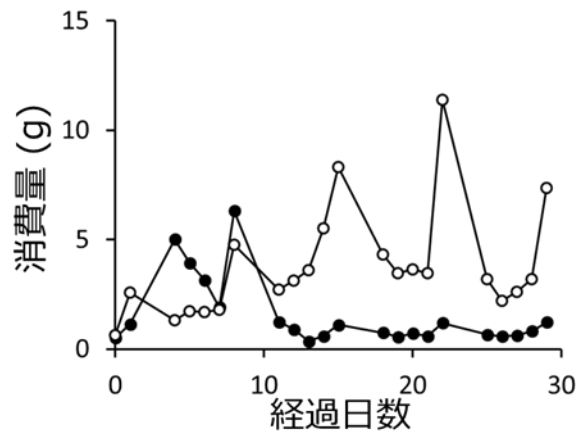


図 3-2-1-15. フィプロニル 200 ppb 試験の処理区 (●) および対照区 (○) の花粉消費量の推移。なお、金曜日は、試験餌を倍量与え、その消費量を月曜日に計測したため、実質 3 日分の消費量が 1 日分として記録されている。

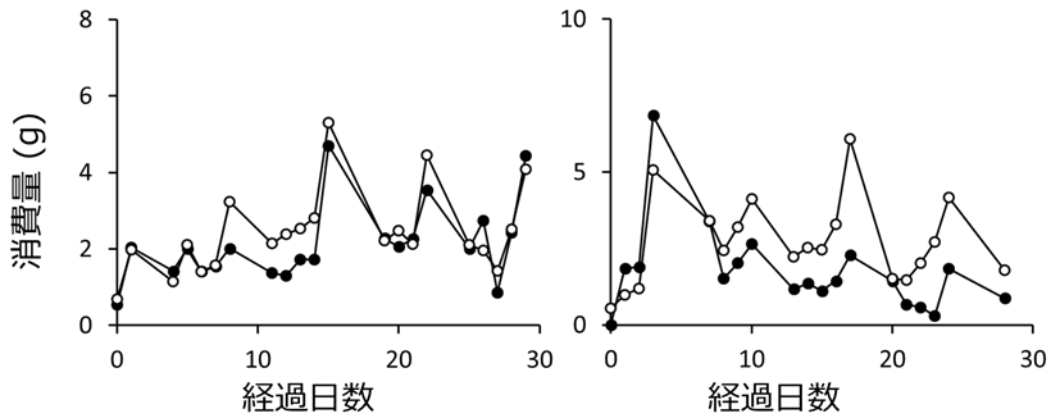


図 3-2-1-16. フィプロニル 20 ppb 試験の 1 回目 (左) および 2 回目 (右) の処理区 (●) および対照区 (○) の花粉消費量の推移。なお、金曜日は、試験餌を倍量与え、その消費量を月曜日に計測したため、実質 3 日分の消費量が 1 日分として記録されている。

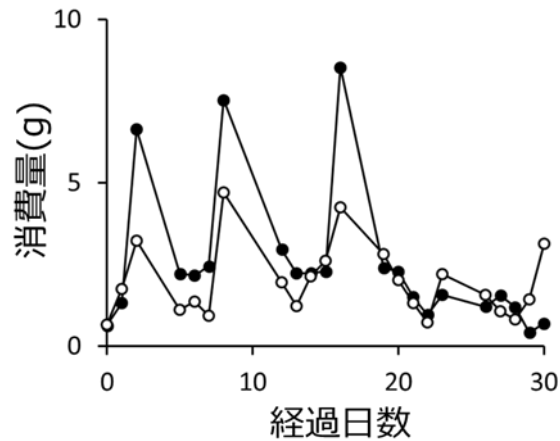


図 3-2-1-17. フィプロニル 2 ppb 試験の処理区 (●) および対照区 (○) の花粉消費量の推移。なお、金曜日は、試験餌を倍量与え、その消費量を月曜日に計測したため、実質 3 日分の消費量が 1 日分として記録されている。

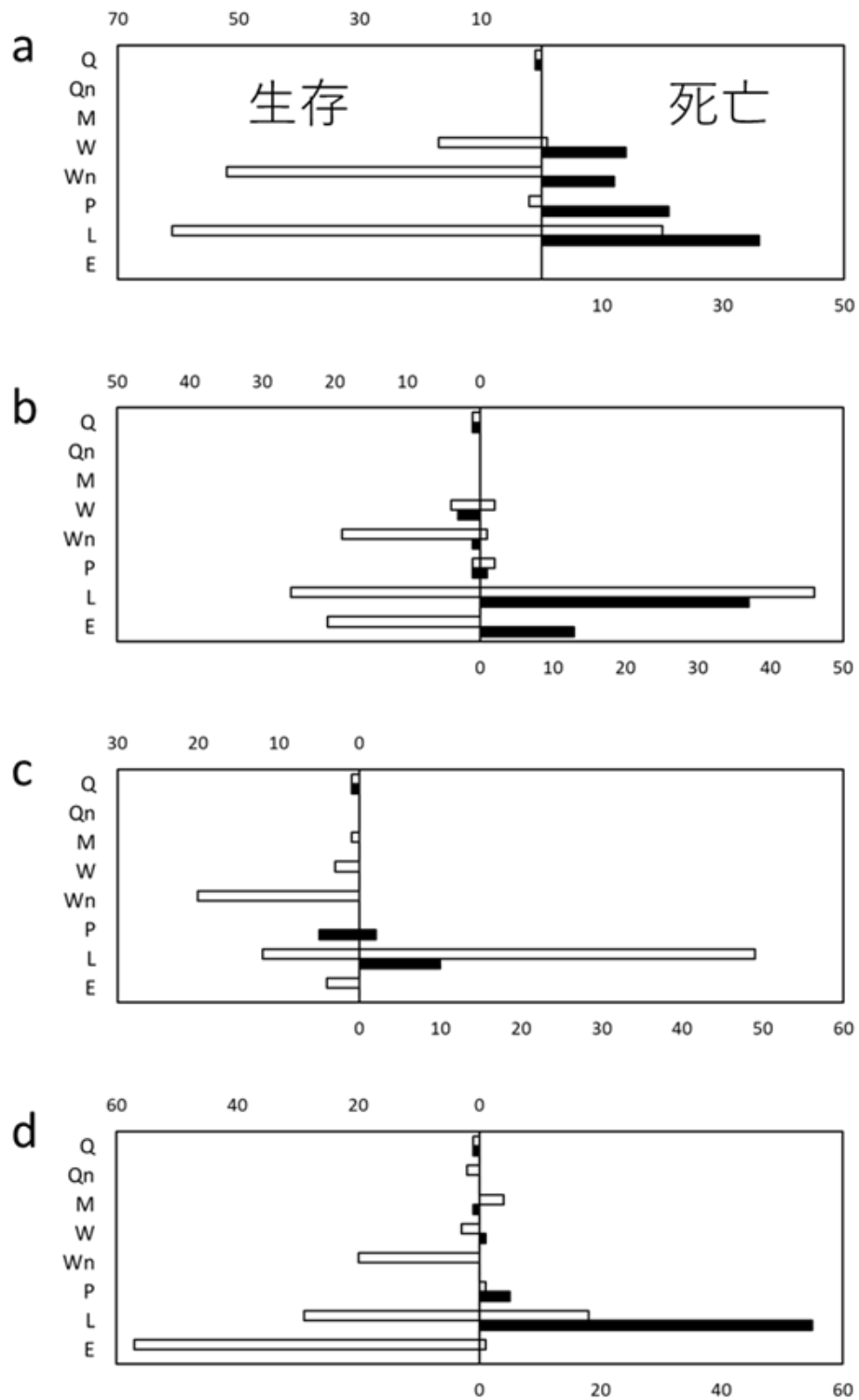


図3-2-1-18. ハウス試験後のコロニー内の生死調査。200 ppb 試験 (a)、20 ppb 試験 1 回目 (b)、20 ppb 試験 2 回目 (c)、2 ppb 試験 (d) の処理区 (■) および対照区 (□) の創設女王 (Q)、新女王 (Qn)、オス (M)、導入働き蜂 (W)、新働き蜂 (Wn)、蛹 (P)、幼虫 (L)、卵 (E) の個体数。各グラフの 0 より左側が生存、右側が死亡していた個体数。

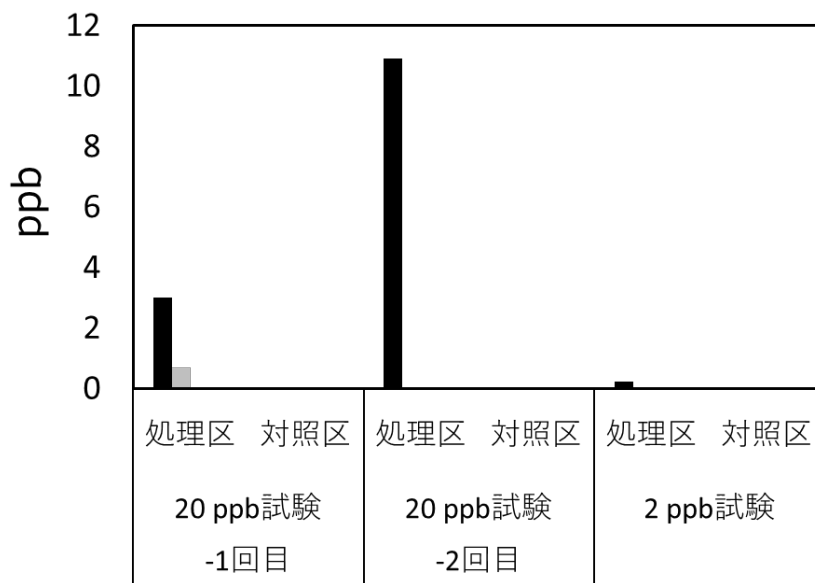


図 3-2-1-19. 花粉ポットに残留したフィプロニル (■) およびその分解産物であるフィプロニルスルホン (■)、フィプロニルスルフィド (⊠)、フィプロニルデスルフィニル (□) の濃度。ただしフィプロニルスルフィドとフィプロニルデスルフィニルはいずれのサンプルでも検出下限値未満であった。

3-2-2 野生ハチ類への曝露リスクの考え方

EFSA（欧州食品安全機関）（2013）では、ハチへの農薬曝露リスクにおいて、世界で初となる詳細な評価方法についてのガイダンス文書を公開している。我が国でも、将来的に野生ハチ類の農薬リスク評価システムを導入することを視野に入れ、本項では、EFSA（2013）の曝露リスク評価方法の考え方をまとめるとともに、我が国の使用実態に合わせるための改善点について提案する。なお、EFSA（2013）の曝露リスク評価スキームの抄訳は別紙 1 として添付した。

● 想定される曝露経路と採餌シナリオ

農薬のハチへの曝露リスクを評価するプロセスは、大きく二つの要素からなる。その物質が環境中にどの程度存在し得るか、環境中で想定される最大濃度でハチが曝露した場合にどのような影響があるか、である。これら进行评估するにあたり、EFSA（2013）では、(1) 直接曝露、(2) 花蜜・花粉の消費、(3) 蓄積毒性、(4) 汚染水、(5) 代謝産物の、主に 5 つの曝露経路を想定している。(1) 直接曝露では、散布された液剤や固形剤が直接ハチに付着した場合の急性毒性について言及している。(2) 花粉・花蜜の消費では、散布された液剤や固形剤が花粉や花蜜に移行し、それらの曝露量をミツバチの摂食期間や摂食量で換算することにより、成虫の急性・慢性毒性、幼虫毒性を評価するスキームとなっている。(3) 蓄積毒性では、高薬量区と低薬量区の 2 グループに分け、活性物質の蓄積性を評価する。(4) 汚染水では、作物葉面からの排水（溢泌液）、地表水、水たまりなどの水利用からの曝露リスクを想定している。(5) 代謝産物では、植物体内で農薬が代謝された場合のリスクについて言及している。また、それぞれの曝露経路において、次の場所への採餌シナリオが想定される。(a) 農薬処理された作物（以下、処理作物）、(b) 近隣作物、(c) 処理農地内の雑草、(d) 農地周縁部の植物、(e) 次年の永年作物や後作物。

● 段階的評価

評価スキームでは、まず「スクリーニング評価」から開始し、基準をクリアしなかった場合は、「第一段階評価（Tier 1）」に進む。第一段階評価の基準を満たさない場合は、用いた数値等の精緻化、あるいはリスクを緩和する措置等を講じることが可能かどうかを検討する。それでも基準を満たさない場合は、より高次の評価に進む。

● EFSA（2013）における直接曝露の考え方

上述した曝露経路の多くは、我が国でも想定されるが、薬剤の散布方法についてはやや異なるところがあるため、以下に整理する。EFSA（2013）で想定される散布方法には、液剤と固形剤の散布がある。直接曝露のスクリーニング評価においては、施用率（活性物質の g/ha）を急性接触 LD₅₀ で割ることによりハザード比（hazard quotient, HQ）を算出し、それがトリガー値を下回れば保護目標が達成される、と評価することとなっている。トリガー値の算出方法は Appendix M に詳しく書かれているが、スプレー散布の急性接触曝露の場

合は、Koch and Weisser (1997)で実施されたフィールド試験の結果に基づき算出されている。この調査では、ハゼリソウ *Phacelia* への下方スプレー散布後およびリンゴへの側方／上方スプレー散布後、近隣に設置したセイヨウミツバチコロニーへの曝露量を実測しており、それぞれが下方散布、側方／上方散布時のトリガー値の根拠となっている。同等の施用率であっても、側方／上方散布よりも下方散布の方がハチ 1 匹あたりの付着量が多かったため、下方散布のトリガー値の方がより厳しい基準が設定されている。ただし、Koch and Weisser (1997)でも述べられているが、ハゼリソウとリンゴでは散布時間が異なり、リンゴなどの果樹への散布では散布幅が狭くより長い散布時間となるため、結果的にハチへの曝露時間が長くなることにも言及している。一方で、固形剤の粉じんは、液剤よりも付着率が高いこと想定されるため、上述のトリガー値の 3 分の 1 が設定されている。また、本スキームでは、それらが農地周縁部へドリフトした場合についても想定し、それぞれのドリフト率も考慮している。スプレー散布では、Candolfi et al. (2001) での耕種作物、果樹、ぶどう、ホップの調査に基づき、処理農地内で直接曝露した場合に対して、農地周縁部におけるそれぞれの軽減率が示されている。固形剤では、SANCO ガイダンス文書で示された粉じんの規定の付着率に基づき、種子処理および粒剤散布時のダストドリフトについて軽減率を算出している。このように、トリガー値の設定では、何らかの実測値に基づき、それを代表値として扱っていることわかる。

● 我が国における直接曝露の考え方

2000 年代より欧米で問題となった「蜂群崩壊症候群」(CCD) について世界的に関心が高まる中、我が国でも農薬が原因と疑われる飼養ミツバチが減少する事例が報告されてきた。それを受けて、農林水産省では 2013 年度からセイヨウミツバチへの曝露実態調査を行っており、その報告の中でミツバチへの被害の発生が水稻のカメムシ防除の時期に多いこと、またその周辺で採取されたミツバチから農薬が検出され、農薬への直接曝露が被害の主要因の可能性が高いと結論づけている。イネへの散布方法のうち、直接曝露の可能性のあるのは地上散布、空中散布による散布であるが、EFSA (2013) で想定されている液剤(粉剤)の散布方法は、上述の通り地上(スプレー)散布のみで、航空散布については言及されていない。これらの航空散布は、有人ヘリコプターによる散布(空中散布)と無人ヘリコプターによる散布を指し、地上散布と比較して散布高度が高く、ドリフトの危険性が高まる恐れが指摘されている。環境省が公表している水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の中の環境中予測濃度(水産 PEC)においても、地上散布と空中散布のドリフト率は別個のものとする考え方を示していることから、我が国におけるハチ類に対する直接曝露のリスク評価を行う上で、新たに航空散布の評価方法についても検討する必要があると考える。なお、航空散布の適用対象は、イネの他にマツノザイセンチュウによる松枯れ予防や野鼠による農作物被害防止等でも登録されている。また、EFSA (2013) では固形剤の直接曝露についても整理している。欧州では、農薬コーティング処理された種子を播種する際や、粒剤の土壌混和の際に、大型機械を使用することが一般的で、作業中にコーティン

グや粒剤の粉じんが巻き上げられるため、粉じんのドリフトについてもリスク評価がなされている。我が国でも、種子処理や粒剤の土壌混和は行われているが、粉じんが広範囲に巻き上がるような播種方法を用いないため、粉じんドリフトについては省略する、あるいはドリフト率を精緻化することが可能と判断される。

- **水中の環境中予測濃度（水産 PEC）の算出方法を「陸域」に応用することは可能か**

上述の通り、我が国では、すでに水生生物への影響を評価する水産 PEC の算定方法が開発されている。水産 PEC の算定では、農耕地で使用された農薬の一部が散布時のドリフトや表面流出により河川に流入することを想定している。また、算定に用いるモデル流域は全国平均的な状況を想定し（面積 100 km²のモデル流域を設定し、水田（500 ha）、畑地（750 ha）および河川（本川、支川）で構成される）、標準的なシナリオで農薬が使用された場合に、河川本川の下流域（評価地点）においてどの程度の濃度になるかを算出するものである。つまり、モデル流域内の農耕地で集中的・限定的に使用された農薬が、評価地点である下流域に至るまでに希釈されることを想定した概念と言える。しかし、ハチ類（陸域 PEC）の場合、評価地点を巣内蓄積と定義すると、ハチ個体が直接曝露する、あるいは花粉・花蜜を介して巣内に運び込む等の複雑かつ多様な曝露経路が想定される。特にコロニーを形成するような種においては、農耕地等で集中的に散布された物質がそのまま評価地点に集約されるリスクがあるため、水産 PEC の考え方を陸域 PEC に応用することは困難と判断される。ただし、水産 PEC で設定されている水田や非水田での算定に用いる各種パラメーター（ドリフト率等）は、陸域 PEC でも利用可能と考えられる。

- **景観を考慮した曝露評価の必要性**

EFSA（2013）では、評価の初期段階では保守的なシナリオを想定しつつも、実際には景観を考慮することの必要性についても言及している。つまり、ミツバチのコロニーでは、農薬処理農地だけではなく、その他の土地でも採餌するので、個体単位だけではなくコロニー単位での平均曝露濃度を考えた時に、採餌エリアや採餌戦略を考慮しなければならないことを指摘している。一般的に、セイヨウミツバチの採餌範囲は少なくとも半径 3km 圏であると言われているが、採餌エリアの統一見解は得られておらず、空間分布を考慮した平均曝露濃度を求める計算モデルの開発はこれまでにない。そのため、将来的に景観レベルを考慮した曝露リスク評価のガイダンスを開発することが推奨されている。

- **野生ハチ類へのリスク緩和措置**

EFSA（2013）では、第一段階評価で基準を満たさなかった場合は、農薬使用時のミツバチへの曝露量を低下させるなどのリスク緩和措置を講じることが一つの選択肢となると述べている。飼養ハチ（ミツバチ）であれば、散布時や散布直後はミツバチの巣箱を退避させる、あるいは巣箱に覆いをするなどの対策が有効であるが、野生ハチ類には当てはまらないことに留意する必要がある。また退避や覆いが、ミツバチにとって悪影響となる場合、あるいは養蜂家の生計上好ましくない場合もある。野生ハチ類に対しても有効な緩和措置

としては、農作物に対する開花期の直接散布は回避する、あるいは農地内の雑草を（開花期前に）取り除き、雑草への採餌を回避する、などが挙げられる。

野生ハチ類への曝露予測濃度を算出する方法を検討するにあたり、EFSA（2013）が参考になる部分が多い。ただし、EFSA（2013）の内容は、第一段階評価（Tier 1）であってもかなり緻密なものであり、今後我が国での評価システムを構築する上で、ある程度の簡略化が必要になると思料される。

3-3 実態調査

実態調査では、野外における野生ハチ類の曝露実態を把握するために、農薬の植物体への残留およびそれらが巣へ持ち帰られる量を調査し、営巣場所の周囲の情報を考慮した上で、野生ハチ類の曝露リスクについて考察することを目的とする。本項では、主にナスとそれを好むマルハナバチを対象に調査を進めたが、マルハナバチの巣内より十分量の花粉や蜂蜜をサンプリングすることは困難なため、包括的な巣内残留濃度調査は、ミツバチを対象に行った。

(1) では、国立環境研究所の実験圃場内において環境条件を揃えた上で、農薬の土壌処理による植物体内への移行および土壌残留濃度を調査するとともに、近隣に設置したマルハナバチのコロニーに対する曝露状況を把握した。(2) では、神奈川県 の 4 圃場のナス畑においてナス果実や周辺雑草の農薬残留濃度を調査するとともに、野生ハチ類の生息実態調査およびマルハナバチのコロニーを設置することにより、それらへの曝露実態を把握した。(3) では、ミツバチのコロニーへの持ち帰り花粉および蜂蜜への農薬残留濃度を包括的に調査し、曝露実態を把握した。

3-3-1 調査対象とする地域などの抽出

マルハナバチの調査では、茨城県の国立環境研究所圃場および神奈川県 の 4 圃場、ミツバチの調査では、茨城県つくば市内の 7 地点を選定した (図 3-3-1-1)。

(1) 国立環境研究所圃場で実施したナス栽培とマルハナバチへの曝露調査 (模擬調査)

本項では、国立環境研究所の圃場におけるナス (トゲナシ千両 2 号) の栽培とその農薬施用状況について示す。本調査で対象とした有効成分は、ネオニコチノイド系農薬のジノテフラン、有機リン系農薬のアセフェートおよびダイアジノンの 3 種で、農薬登録情報提供システム (農林水産消費安全技術センターホームページ

<http://www.acis.famic.go.jp/searchF/vtllm001.html>) よりナスに適用のある農薬製剤を有効成分ごとにリスト化し、登録数が多いことかつ土壌処理の適用があることに加え、浸透移行性の有無による残留比較が可能なことを理由に選定した (表 3-3-1-1)。

2017 年 7 月 13 日に播種し、8 月 8 日の定植時に土壌処理を実施した (図 3-3-1-2)。ジノテフラン処理区、アセフェート処理区、ダイアジノン処理区、無処理の対照区を 1 株ずつまとめて 1 組とし、20 組 (計 80 株) を構成した (図 3-3-1-3)。それぞれの処理区では、アルバリン粒剤 (ジノテフラン 1%、三井化学) を 2.00 ± 0.007 g (平均 \pm S.D.)、GF オルトラン粒剤 (アセフェート 5%、住友化学) を 2.00 ± 0.012 g、ダイアジノン粒剤 (ダイアジノン 5%、日本化薬) を 0.40 ± 0.006 g を各株に施用した。

各農薬処理がナスの成長量に影響していないか調べるために、定植 10 日後に、各株の地上高、長さ 4 cm 以上の葉の枚数、最長の葉の長さ及び幅を計測した (図 3-3-1-4)。各処

理を要因とした一元配置の分散分析を行い、処理間に有意な差がみられるか検証した。その結果、地上高 ($F=2.327, p=0.082$)、長さ 4 cm 以上の葉の枚数 ($F=1.228, p=0.31$)、最長の葉の長さ ($F=1.205, p=0.31$)、最長の葉の幅 ($F=0.912, p=0.44$) のいずれにおいても有意な差はみられなかった。

(2) 神奈川県 4 圃場のナス畑周辺におけるマルハナバチへの曝露調査(野外マルハナ調査)

ナス畑を保有する神奈川県横須賀市の 2 圃場 (Y、MT) および平塚市の 2 圃場 (MZ、N) を選定した。Y 圃場の面積は約 750 m²で、イミダクロプリドの土壌処理やアセタミプリドの散布が行われていた (表 3-3-1-2)。MT 圃場の面積は 1900 m²で、このうちナス畑は 450 m²、ナスの他にトマト、メロン、キュウリなども栽培されていた。MT 圃場では、スワルスキーカブリダニを利用した減農薬栽培が試験的に行われているため、農薬の使用頻度は比較的少なかった (表 3-3-1-3)。MZ 圃場の面積は約 10800 m²で、このうちナス畑は約 1000 m²、ナスの他にネギなども栽培されており、ネオニコチノイド系農薬は使用されていなかった (表 3-3-1-4)。N 圃場の面積は約 700 m²、その大部分がナス畑であり、チアメトキサムとクロチアニジンが使用されていた (表 3-3-1-5)。いずれの圃場でも、アザミウマやアブラムシ等の害虫被害を軽減するために、近隣にソルゴーが栽培されていた。

(3) 茨城県つくば市内におけるミツバチへの曝露調査 (野外ミツバチ調査)

茨城県つくば市内でミツバチが飼養されている 7 地点を選定した。主に、野生種であるニホンミツバチ *Apis cerana japonica* を調査対象とし、比較のため家畜であるセイヨウミツバチ *Apis mellifera* も含めた。花粉と蜂蜜採取のためいずれも飼養コロニーを扱ったが、原則人工給餌は行わなかったため、野生コロニーと同様の曝露実態を把握できると考えられる。

表 3-3-1-1. ナスに適用のある農薬製剤のうち登録数の多い上位 30 種類

農薬名	登録数
ジノテフラン粒剤	42
シアントラニリプロール水和剤	36
ベルメトリン乳剤	32
M E P 乳剤	28
クロルフェナピル水和剤	28
クロラントラニリプロール水和剤	28
ダイアジノン粒剤	27
アセフェート粒剤	25
クロルピクリンくん蒸剤	24
ダイアジノン乳剤	24
イミダクロプリド水和剤	21
マラソン乳剤	20
ジノテフラン水溶剤	19
クロチアニジン粒剤	18
アクリナトリン水和剤	16
ニテンピラム粒剤	16
アセタミプリド水溶剤	16
ダイアジノン水和剤	15
アセタミプリド粒剤	14
ビフェントリン水和剤	13
フェンバレレート・マラソン水和剤	12
エトフェンプロックス乳剤	12
フェンプロパトリン乳剤	12
クロチアニジン水溶剤	12
テフルベンズロン乳剤	10
イミダクロプリド粒剤	10
トルフェンピラド乳剤	10
トルフェンピラド水和剤	10
ノバルロン乳剤	10
D - D 剤	10

表 3-3-1-2. Y 圃場における 2017 年のナスへの農薬使用履歴

タイプ	薬剤名	有効成分
殺菌	ダコニール1000	テトラクロロインソフタロニトリル
殺虫	アドマイヤー粒剤	イミダクロプリド (土壌処理)
殺菌	トリフミン	トリフルミゾール
殺虫	コテツ	クロルフェナピル
殺虫 (ダニ)	マイトコーネ	ビフェナゼート
殺虫	カスケード	フルフェノクスロン
殺菌	Zゴールドー	塩基性硫酸銅
殺虫	コルト	ピリフルキナゾン
殺虫	スピノエース	スピノサド
殺虫	フェニックス	フルベンジアミド
殺虫	モベント	スピロテトラマト
殺虫	モスピラン	アセタミプリド
殺菌	パンチョ	シフルフェナミド・ トリフルミゾール
殺菌	ファンタジスタ	ピリベンカルブ
殺虫	プレオ	ピリダリル
殺虫 (ダニ)	カネマイト	アセキノシル
殺虫	フェニックス	フルベンジアミド
殺菌	アフエット	ペンチオピラド
殺虫	トレボン	エトフェンプロックス
殺虫 (ダニ)	コロマイト	ミルベメクチン

表 3-3-1-3. MT 圃場における 2017 年のナスへの農薬使用履歴

タイプ	薬剤名	有効成分
殺虫	ウララDF	フロニカミド
殺虫	チェス	ピメトロジン
殺虫 (ダニ)	スターマイト	シエノピラフェン

表 3-3-1-4. MZ 圃場における 2017 年のナスへの農薬使用履歴

タイプ	薬剤名	有効成分
殺虫	アフーム乳剤	エマメクチン安息香酸塩
殺虫	サンクリスタル乳剤	脂肪酸グリセリド
殺虫	ハチハチ乳剤	トルフェンピラド
殺菌	ベルコートフロアブル	イミノクタジンアルベシル酸塩
殺菌	コサイド	水酸化第二銅
殺虫	マッチ乳剤	ルフェヌロン

表 3-3-1-5. N 圃場における 2017 年のナスへの農薬使用履歴

タイプ	薬剤名	有効成分
殺虫	ベリマークSC	シアントラニリプロール
殺虫	アクタラ	チアメトキサム
殺菌	ダコニール1000	テトラクロロインソフタロニトリル
殺虫	ダントツ水和剤	クロチアニジン
殺虫	サンクリスタル乳剤	脂肪酸グリセリド
殺虫	アフーム乳剤	エマメクチン安息香酸塩
殺菌	インプレッションクリア	バチルス アミロリクエファシエンス
殺菌	ダコニール1000	テトラクロロインソフタロニトリル
殺虫	スワルスキー放飼	スワルスキーカブリダニ (ダニ)
殺虫	プレバソフフロアブル	クロラントラニリプロール
殺菌	インプレッションクリア	バチルス アミロリクエファシエンス
殺菌	ガッテン乳剤	フルチアニル

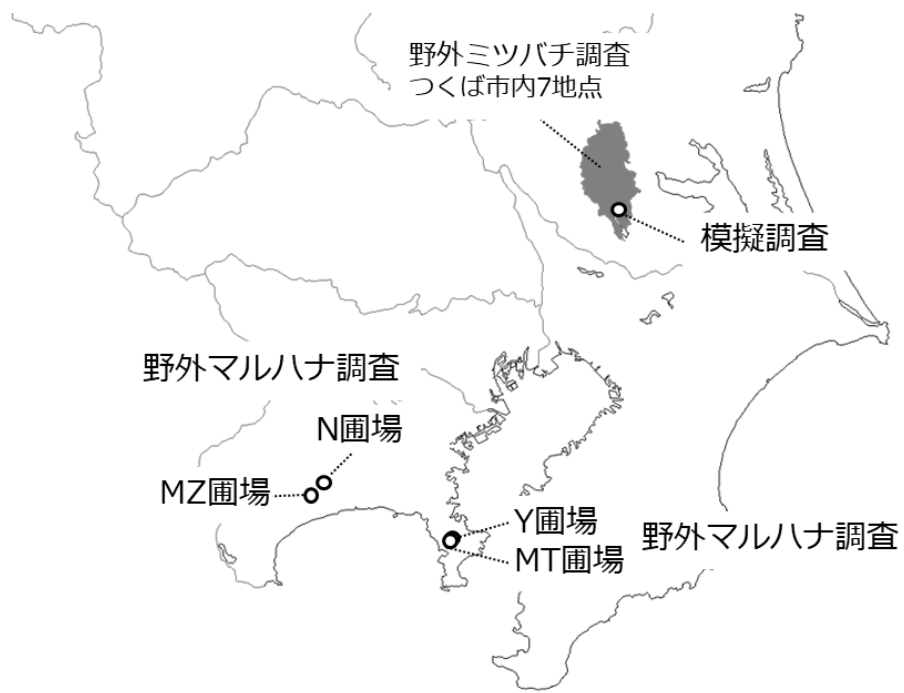


図 3-3-1-1. 実態調査を行った調査地域



図 3-3-1-2. ナスの発芽（左）と定植時の薬剤の土壌処理（右）

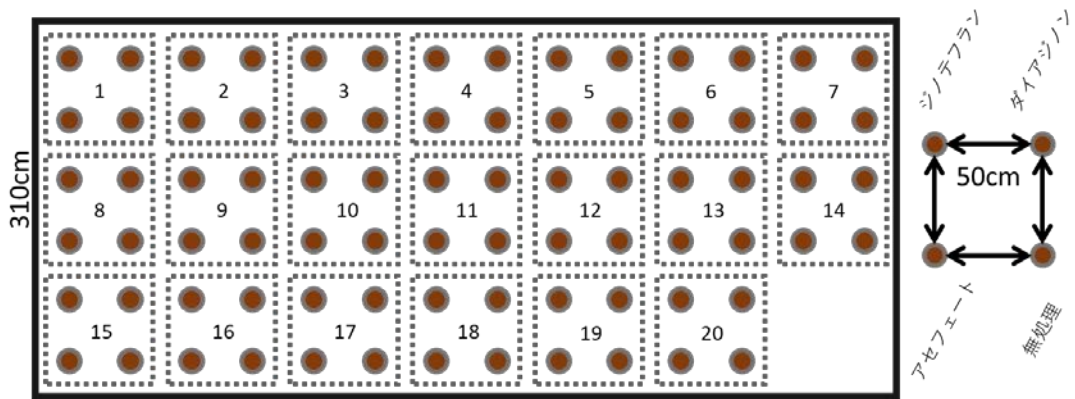


図 3-3-1-3. 国立環境研究所におけるナス栽培時のポットの配置図

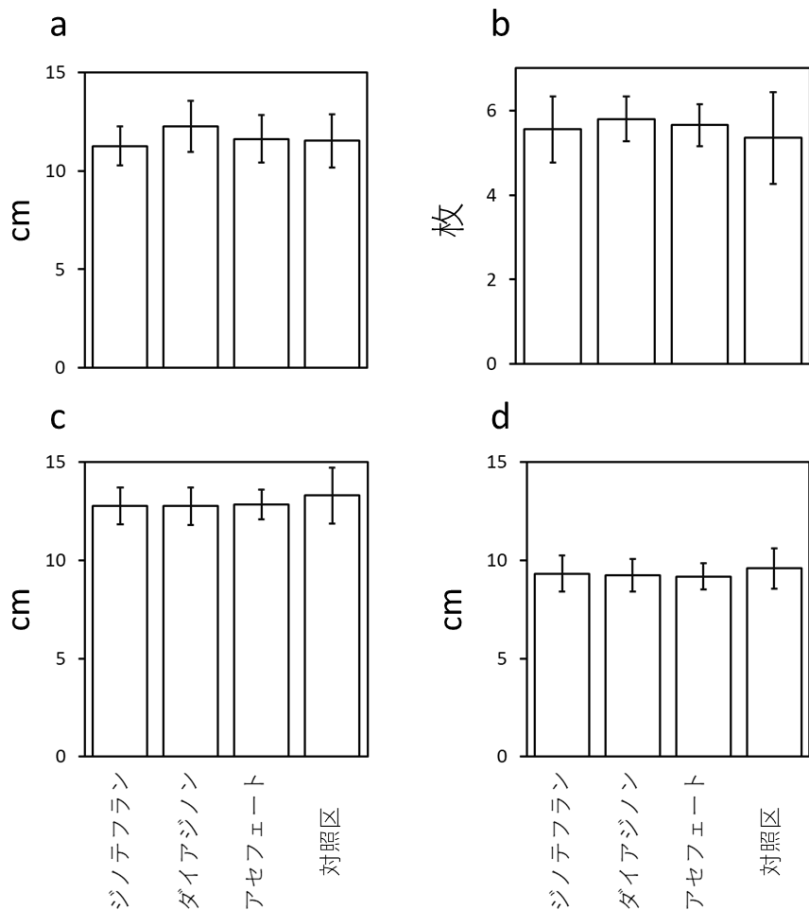


図 3-3-1-4. 定植 10 日後のナスの地上高 (a)、葉の枚数 (b)、最長の葉の長さ (c)、最長の葉の幅 (d)。エラーバーは標準偏差を示す。

3-3-2 野生ハチ類生息実態調査

(1) 国立環境研究所圃場で実施したナス栽培とマルハナバチへの曝露調査（模擬調査）

本項では、生息実態調査は実施しなかった。

(2) 神奈川県4圃場のナス畑周辺におけるマルハナバチへの曝露調査（野外マルハナ調査）

ナスに訪花する野生ハチ類を含む昆虫類を採集し、周辺の訪花昆虫相を調査した。それぞれの調査地において、2名の調査者が同時に圃場内を歩き、ナスへの訪花昆虫を採集した。採集日時を表 3-3-2-1 に示す。採集した昆虫は国立環境研究所に持ち帰り同定した。その結果、ナスを訪花していた昆虫は合計 14 種 37 個体が確認され、このうち 10 種がハナバチ類であった（表 3-3-2-2）。もっとも多く採集された種はトラマルハナバチで 17 個体であった。

(3) 茨城県つくば市内におけるミツバチへの曝露調査（野外ミツバチ調査）

本項では、生息実態調査は実施しなかった。

表 3-3-2-1. 各圃場におけるナスへの訪花昆虫調査の実施日

調査地		8月31日	9月1日	9月6日	9月7日	9月15日
横須賀	Y圃場			1h		1h
	MT圃場	1h			1h	1h
平塚	MZ圃場		1h		1h	
	N圃場		1h		1h	

表 3-3-2-2. 訪花昆虫調査の結果。w: 働き蜂、f: メス、m: オス、数字は個体数を表す。

分類	訪花昆虫 和名	8月31日	9月1日	9月6日	9月6日	9月7日	9月7日	9月15日	総個体数
		横須賀 MT	平塚 MZ	横須賀 Y	横須賀 MT	横須賀 MT	平塚 N	横須賀 MT	
ハチ目	トラマルハナバチ	w1	w1	w1	w2	w8		w4	17
	クロマルハナバチ					w1			1
	アオスジハナバチ		f1				f1		2
	スジボソフハナバチ			f1					1
	キオビコハナバチ	m1							1
	サビイロカタコハナバチ		f2						2
	シロスジカタコハナバチ			f1					1
	ヒラタチビコハナバチ					f4		f1	5
	フタモンカタコハナバチ					f1			1
	ズナガチビコハナバチ							f1	1
ハエ目	ニクバエの1種	f1							1
	ホソヒラタアブ					f1			1
	ツマグロキンバエ						m1		1
チョウ目	イチモンジセセリ	f1, m1							2
	総個体数	5	4	3	2	15	2	6	37

3-3-3 農薬残留実態調査

(1) 国立環境研究所圃場で実施したナス栽培とマルハナバチへの曝露調査（模擬調査）

① 方法

農薬の土壌処理を行ったナス栽培において、土壌、ナスの根、葉、花粉、果実を農薬残留分析の試料として採取した（図 3-3-3-1）。土壌とナスの根は 2017 年 10 月 26 日に、ナスの葉は 2017 年 9 月 21 日に、花粉は 9 月 29 日に各 1 回ずつ採取した。果実は濃度変化を調べるために 2 回に分けて採取し、1 回目を 9 月 19 日または 9 月 20 日に、2 回目を 10 月 3 日または 10 月 11 日に実施した。各区 20 株ずつ栽培した中から、農薬処理区ではそれぞれについて 10 サンプル、対照区では 2 サンプルを採取した。ナスの土壌、根、葉の試料では、若い番号から順次採取し（処理区：1-10、対照区 1-2）、ナスの実および花粉においては、開花や結実が十分でない株が見られたため、採取可能なものから任意に 10 サンプルを採取した（表 3-3-3-1、3-3-3-2）。ナスの土壌、根、葉、果実は 5 g 以上を、花粉は採取量が少ないため可能な限りを試料として採取し、遮光遠沈管に入れ分析まで冷凍保存した。土壌試料は、施用した農薬粒剤が混入しないようナスの根元とポットの内壁面との中間部分から採取、根試料は、水道水で土を除去してから採取、花粉試料は、花粉のみを選び分けることが困難であったため蒴ごと採取した。農薬残留分析では、それぞれの処理区で施用した農薬（ジノテフラン、ダイアジノン、アセフェート）の濃度を測定し、対照区では 3 種すべてについて対象とした。

クロマルハナバチがナスの花粉を持ち帰り、さらにその花粉に農薬が残留していたかどうかを調査するために、栽培しているナスの近傍に標準化したクロマルハナバチの市販コロニーを設置し（コロニーの標準化方法については、「3-2-1（3）コロニー毒性試験」を参照）、回収した花粉ポット中に存在するナスの花粉率の調査および農薬残留分析を実施した（図 3-3-3-2）。10 月 5 日にコロニーを設置、10 月 19 日にコロニーを回収した。

ナスの花粉率調査では、花粉ポットの一部を用いて顕微鏡下で形態を観察し、ナス科ナス属とナス科ナス属以外に分類した。1 試料につき、視界に入った任意の 500 個を観察し、それを 3 反復した。

残りの花粉ポットと巣内の蜜壺内のハチミツを農薬残留分析の試料としてそれぞれ採取し、冷凍庫（-30℃）で一時的保管し、分析機関に送付した。

② 結果

ナス植物体および土壌における農薬残留濃度の分析結果、ジノテフラン処理区では、葉で平均 3 ppm 以上と極めて高く、続いて花粉、果実の 1 回目採取、2 回目採取の順に検出濃度は低くなり、土壌や根では 10 ppb 程度であった（図 3-3-3-3）。ダイアジノン処理区では、根で最も高く検出されたものの検出濃度は平均 17 ppb で、続いて葉からもわずかに検出されたが、花粉や実からは検出されなかった（図 3-3-3-4）。アセフェート処理区では、最も高い濃度が検出された葉で約 50 ppb、その他の試料ではさらに低濃度であった（図

3-3-3-5)。一方、対照区では、葉、花粉、果実からわずかに検出されたものの、いずれ 1 ppb 以下であった（表 3-3-3-3）。

国立環境研究所の圃場に設置したコロニーの花粉ポットからはナスの花粉は検出されなかった。

花粉ポットの農薬分析の結果、ジノテフランとアセフェートは検出されなかった（図 3-3-3-6）。ダイアジノンとハチミツの両方から微量に検出された。

表 3-3-3-1. 採取したナスの花粉の株番号およびその生重量 (g)

No.	ジノテフラン 処理区	ダイアジノン 処理区	アセフェート 処理区	対照区
1	0.0908	0.1638	0.1802	0.2473
2		0.5021	0.2517	0.2593
3	0.0929	0.3079	0.1005	
4	0.1876	0.3566	0.0555	
5	0.0998		0.1080	
6	0.1104	0.3746	0.2173	
7	0.1090	0.1270	0.0635	
8	0.3211	0.2949	0.2722	
9	0.0977			
10	0.2941		0.0828	
11		0.1083	0.1101	
12	0.0498			
13		0.0821		
14		0.1418		
15				
16				
17				
18				
19				
20				
総重量	1.4532	2.4591	1.4418	0.5066
株数	10	10	10	2

表 3-3-3-2. ナスの実の試料を採取した株

Group	ジノテフラン 処理区		ダイアジノン 処理区		アセフェート 処理区		対照区	
	1回目	2回目	1回目	2回目	1回目	2回目	1回目	2回目
1	+	+	+	+	+	+	+	
2			+	+	+			+
3	+		+		+	+	+	+
4	+	+		+	+		+	+
5	+	+			+		+	+
6		+		+		+		
7		+	+	+	+	+		+
8								
9	+	+	+	+	+	+	+	+
10			+					
11	+				+		+	+
12	+		+	+		+	+	+
13	+		+		+		+	
14		+				+		
15		+		+		+		
16								
17	+	+	+	+	+	+	+	+
18								
19	+	+	+	+		+	+	+
20								
総数	10	10	10	10	10	10	10	10

表 3-3-3-3. 対照区における農薬残留濃度 (ppb)

	サンプル番号	ジノテフラン	ダイアジノン	アセフェート
土壌	1	<0.01	<0.01	<0.01
	2	<0.01	<0.01	<0.01
根	1	<0.01	<0.01	<0.01
	2	<0.01	<0.01	<0.01
葉	1	0.192	0.044	0.220
	2	0.375	0.046	0.168
花粉	1	0.160	<0.0441	<0.0441
	2	<0.116	<0.0385	<0.0385
果実①	1	0.074	<0.01	0.018
	2	0.020	<0.01	0.012
果実②	1	<0.01	<0.01	<0.01
	2	<0.01	<0.01	<0.01

*数値の前の「<」は検出下限値未満を示す。

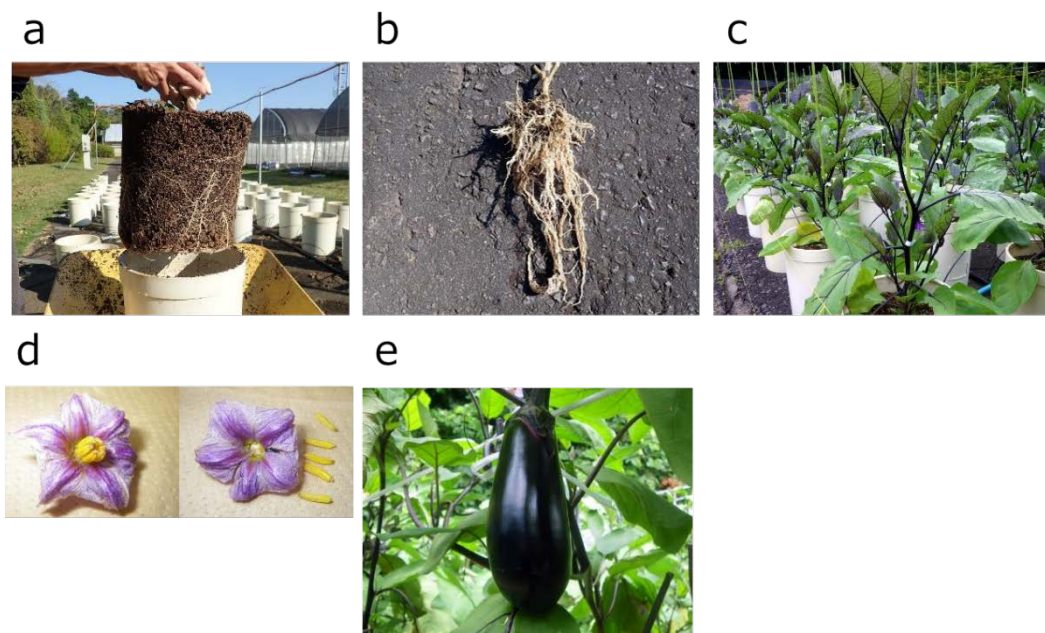


図 3-3-3-1. 土壌処理を行ったナス栽培における (a) 土壌、(b) 根、(c) 葉、(d) 花粉 (葯)、(e) 果実の一例



図 3-3-3-2. 国立環境研究所圃場のナス栽培場所の近傍に設置されたクロマルハナバチの市販コロニー (左) およびその内部に見られた花粉ポット (右)

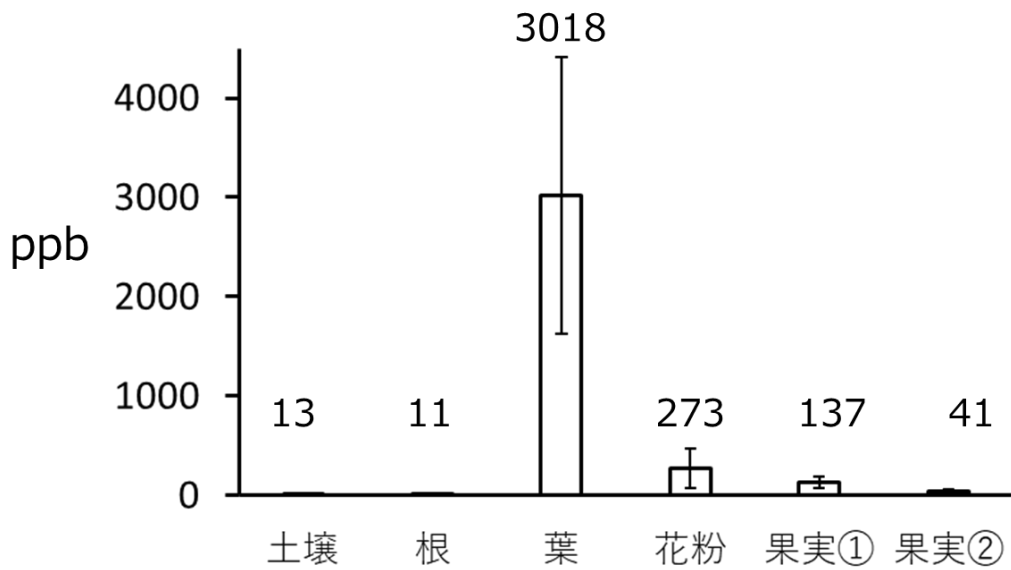


図 3-3-3-3. ジノテフラン処理区における各試料から検出されたジノテフラン濃度の平均値 (各 N=10)。各カラム上部に平均値を示す。エラーバー：標準偏差。

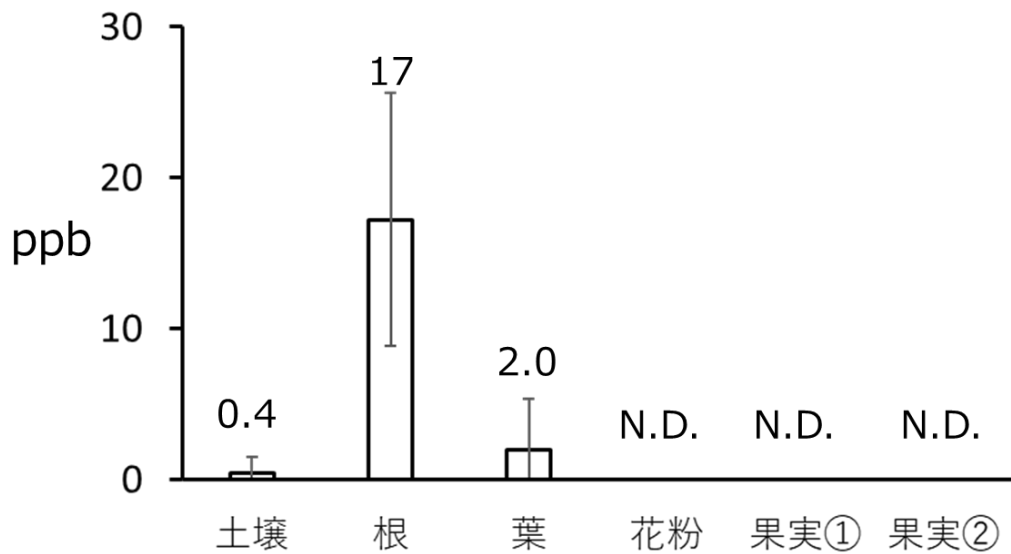


図 3-3-3-4. ダイアジノン処理区における各試料から検出されたダイアジノン濃度の平均値 (各 N=10)。各カラム上部に平均値の数値を示す。エラーバー：標準偏差。
N.D.：未検出。

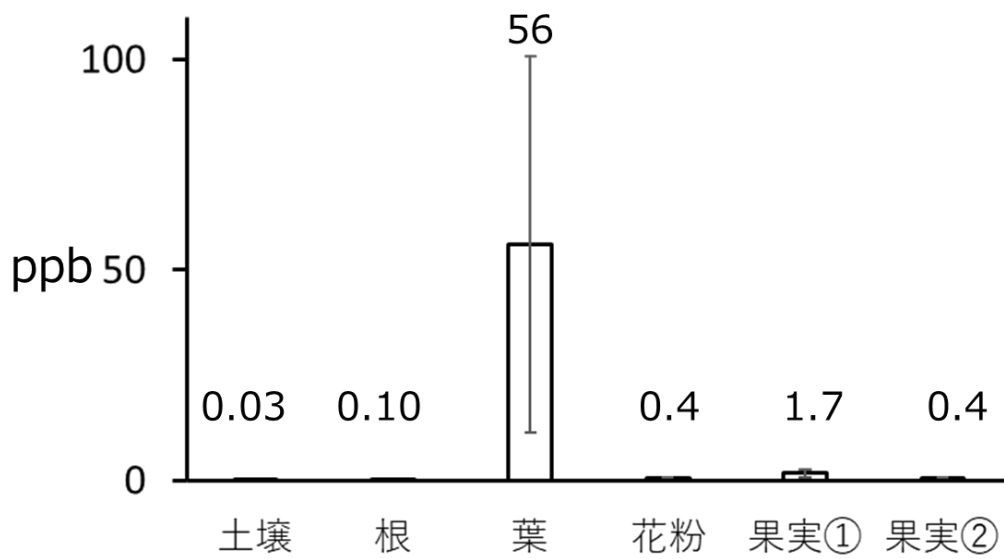


図 3-3-3-5. アセフェート処理区における各試料から検出されたアセフェート濃度の平均値。サンプルサイズは、土壌、根、葉、果実①、果実②で N=10、花粉で N=8 (2 サンプルで未検出)。各カラム上部に平均値の数値を示す。エラーバー：標準偏差。

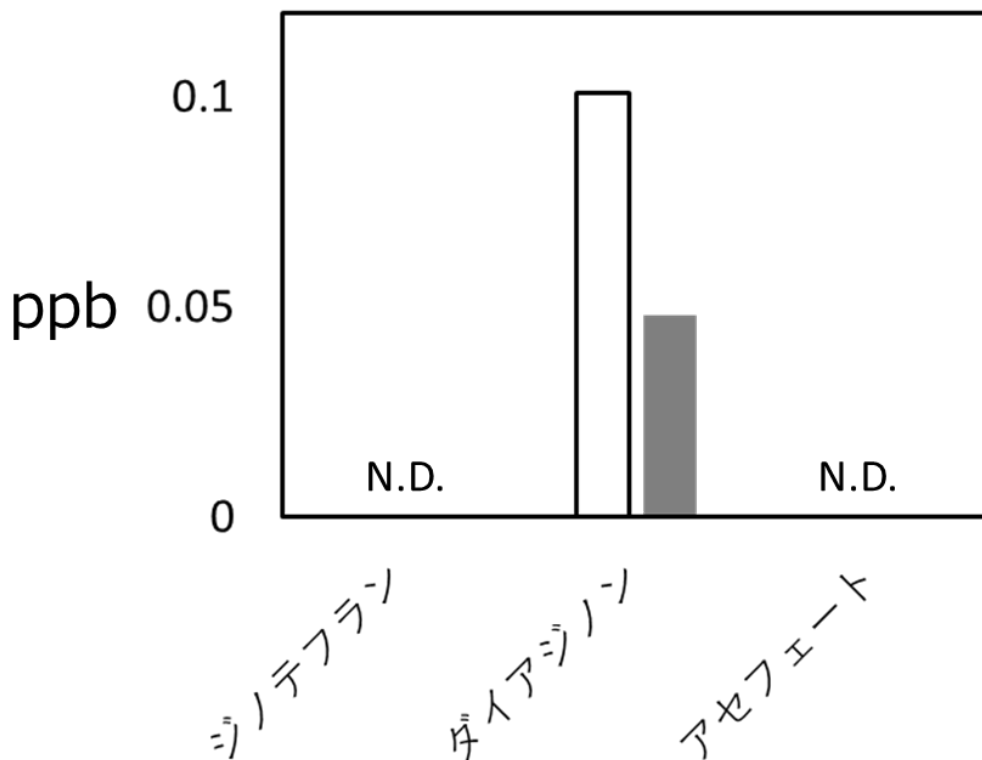


図 3-3-3-6. 模擬調査圃場に設置したコロニー内から回収された花粉ポット (□) および蜂蜜 (■) の農薬残留分析結果。N.D.：未検出。

(2)神奈川県4圃場のナス畑周辺におけるマルハナバチへの曝露調査(野外マルハナ調査)

① 方法

神奈川県 Y、MT、MZ の3圃場において、ナスの果実、周辺土壌、周辺雑草、花粉ポット、花粉荷（ミツバチ・マルハナバチ類の後脚脛節に形成される花粉の塊）を試料として採取し、農薬残留分析を実施した。N圃場では、コロニーを設置できなかったため本項では調査対象から除外した。本調査で分析対象とする農薬は、圃場での使用履歴やおよび都道府県別使用量の情報を考慮して、イミダクロプリド、アセタミプリド、MEP、ダイアジノンを選定した。

周辺土壌は圃場内の畝を避けた任意の場所から表層土を、圃場内の雑草は任意で選び取り、Y圃場ではヤブガラシ、MT圃場ではコゴメギク、MZ圃場ではワルナスビとした。ナスの果実、周辺土壌、周辺雑草はいずれも5g以上採取した。花粉ポットは、標準化したクロマルハナバチコロニー（「3-2-1(3)コロニー毒性試験」を参照）を設置し、一定期間後に回収したものから採取した。設置期間は、Y圃場で9月6日から9月15日、MTおよびMZ圃場で、9月14日から10月4日であった。コロニー内に造成された花粉ポットおよび巣材も試料として採取した。MTおよびMZ圃場に設置したコロニーでは、花粉荷をつけた働き蜂が確認されたため、捕獲し花粉荷を採取した。採取した花粉荷は生重量で、MT圃場で0.237g、MZ圃場で0.062gと微量であった。いずれの試料も、遮光遠沈管に入れ、研究所に持ち帰った後、-30℃に設定した冷凍庫で分析まで保存した。花粉ポット試料の一部は、3-3-3(1)と同様に花粉同定を行った。

② 結果

神奈川県3圃場で採取した試料における農薬残留結果を表3-3-3-6に示す。イミダクロプリドは、MZ圃場の土壌からは比較的高い値(32.728ppb)が検出されたが、他の2圃場の土壌における濃度は低かった。ナス果実からも、すべての圃場で検出が確認されたが、いずれも濃度は低く0.09ppb未満であった。すべての圃場の周辺雑草からも検出されたが、0.6ppb未満と低かった。一方、花粉ポット、巣材、花粉荷からは検出されなかった。アセタミプリドでは、全ての圃場の土壌から検出され、MT圃場の土壌から検出された3.19ppbの値が最も高かった。ナス果実ではY圃場のみ検出されたが濃度は低く、0.04ppbであった。Y圃場とMT圃場の周辺雑草からも検出されたが、0.09ppb未満と濃度は低かった。本剤は全ての圃場の巣材から検出されたが低濃度であり、花粉ポットおよび花粉荷からは検出されなかった。MEPはY圃場の周辺雑草(ヤブガラシ)から検出されたのみであった。ダイアジノンは全ての圃場の土壌、およびMT、MZ圃場の周辺雑草から検出されたが、いずれも低濃度であり、ナス果実からは検出されなかった。また、Y圃場およびMZ圃場に設置したコロニーの花粉ポットおよび巣材から検出されたが低濃度であり、花粉荷からはどの圃場においても検出されなかった。

花粉ポット内の花粉を形態により同定した結果、ナス花粉が多く含まれている事が判明した（図 3-3-3-7）。MZ 圃場、Y 圃場ではナス花粉が全体の 90%以上を占める一方、MT 圃場では 29.5%に留まった。また、MT 圃場の働き蜂から採取した花粉荷についても分析した結果、巣内の花粉ポットとほぼ同等の値、29.9%であった。

表 3-3-3-6. 神奈川の 3 圃場で採取した土壌、果実、雑草試料、設置したコロニーから回収した花粉ポットおよび巣材、および働き蜂から採取した花粉荷における農薬分析の結果（単位は ppb）

農薬	圃場	土壌	果実	雑草	花粉ポット	巣材	花粉荷
イミダクロプリド	Y	0.155	0.041	0.062	<0.01	<0.014	-
	MT	0.350	0.028	0.146	<0.012	<0.013	<0.0422
	MZ	32.728	0.086	0.523	<0.014	<0.013	<0.162
アセタミプリド	Y	0.239	0.070	0.083	<0.03	0.278	-
	MT	3.197	<0.01	0.089	<0.035	0.101	<0.127
	MZ	0.013	<0.01	<0.01	<0.042	0.058	<0.484
MEP	Y	<0.1	<1	3.534	<1	<1.35	-
	MT	<0.1	<1	<1.25	<1.16	<1.29	<4.22
	MZ	<0.1	<1	<1	<1.39	<1.33	<16.2
ダイアジノン	Y	0.021	<0.01	<0.01	0.023	0.118	-
	MT	0.018	<0.01	0.024	<0.012	<0.013	<0.0422
	MZ	0.059	<0.01	0.157	0.143	0.098	<0.162

*数値の前の「<」は検出下限値未満を示す。

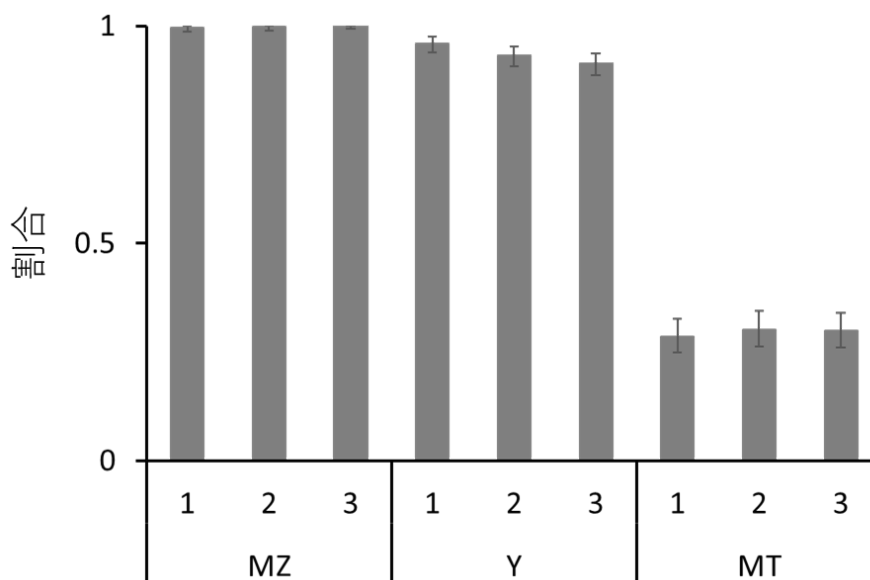


図 3-3-3-7. 野外設置後のコロニーから採取した花粉ポット中の花粉 500 個のうちウチナス属花粉の占める割合。エラーバーはプロビット法による 95%信頼区間。

(3) 茨城県つくば市内におけるミツバチへの曝露調査（野外ミツバチ調査）

① 方法

花粉は、日中、巣箱の入り口に花粉トラップ（図 3-3-3-8）を 2 - 5 時間設置し採取した。蜂蜜は、巣箱の中の貯蜜圏を切り出し採取し、プリンカップに一時保存した。いずれも採取後速やかにクーラーボックスに入れ、研究室に持ち帰った。その後、褐色遮光遠沈管（花粉：容量 25 ml、花蜜：容量 50 ml）に移し替え、重量を計測し、分析機関に送付するまで -20°C 以下の冷凍庫の状態 で保管した。送付の際は、発泡スチロール製の断熱容器にサンプルと保冷剤を入れ、冷凍便を利用した。分析機関に到着後も、分析まで -20°C 以下の冷凍庫で保管した。花粉は 1 g、蜂蜜は 2 g を標準量として分析した。

分析対象とする農薬は、農薬要覧に記載された農薬種類別都道府県別出荷数量から茨城県で使用頻度の高い農薬を参考に選定した。ネオニコチノイド系では、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアクロプリド、チアメトキサム、ニテンピラム、フェニルピラゾール系では、フィプロニルおよび、その分解産物であるフィプロニルスルホン、フィプロニルスフィド、フィプロニルデスルフィニル、有機リン系では、ダイアジノン、MEP（フェニトロチオン）、カーバメート系では、BPMC（フェノルカルブ）、ベンフラカルブ、ピレスロイド系では、エトフェンプロックス、ジアミド系では、クロラントラニリプロールの計 16 種類の残留濃度を調査した。

検出された農薬の傾向を把握するために、以下の統計解析を行った。各農薬の検出下限値未満の値は全てゼロ（検出されず）とした上で、農薬間の比較を容易にするために、各農薬の濃度を最小値 0 から最大値 1 の間の数値となるよう標準化した。サンプル間そして農薬間での類似関係を示すために、階層的クラスタ法により樹形図を作成した。

② 結果

各農薬の検出濃度の生データと定量下限値は、別紙 2 に示す。まず、つくば市内の 3 地点より夏に採集した花粉および蜂蜜内の農薬検出濃度をそれぞれ図 3-3-3-9、図 3-3-3-10 に示す。夏に採集した花粉からは、ネオニコチノイド系で最大 $1.94 \mu\text{g}/\text{kg}$ （ジノテフラン）、その他の農薬（有機リン系・カーバメート系・ピレスロイド系・ジアミド系）で最大 $120 \mu\text{g}/\text{kg}$ （ベンフラカルブ）が検出され、全体としてもネオニコチノイド系よりその他の農薬で検出濃度が高い傾向にあった。フィプロニルは、地点 B のみで検出されたが $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以下であった。夏に採集した蜂蜜からは、ネオニコチノイド系で最大 $0.26 \mu\text{g}/\text{kg}$ （ジノテフラン）、その他の農薬で $0.03 \mu\text{g}/\text{kg}$ （ダイアジノン）が検出され、花粉中濃度の傾向とは反対に、全体ではその他の農薬よりネオニコチノイド系で検出濃度は高い傾向にあった。フィプロニルおよびその分解産物は検出されなかった。地点別にみると、花粉・蜂蜜の結果を総合して、地点 C で多くの種類の農薬が検出された。

次に、つくば市内の 7 地点より秋に採集した花粉および蜂蜜内の農薬検出濃度をそれぞれ

れ図 3-3-3-11、図 3-3-3-12 に示す。秋に採集した花粉からは、ネオニコチノイド系で最大約 0.57 µg/kg (ジノテフラン・チアメトキサム)、その他の農薬で最大 4.68 µg/kg (エトフェンプロックス) が検出され、夏と同様に全体を見てもネオニコチノイド系よりその他の農薬で検出濃度が高い傾向にあった。秋に採集した蜂蜜からは、ネオニコチノイド系で最大 0.51 µg/kg (ジノテフラン)、その他の農薬で最大 4.14 µg/kg (エトフェンプロックス) が検出された。エトフェンプロックスで最大濃度を記録したものの、その他の農薬の検出状況は散発的であった。一方でネオニコチノイド系では地点全体で検出された。フィプロニルは花粉・蜂蜜のいずれからも検出されなかった。地点別に検出農薬の傾向が異なり、特に地点 D でより多くの農薬数および高い濃度を記録した。

各農薬の相対濃度 (0-1) を濃淡で表したヒートマップならびにサンプル間そして農薬間の類似関係を樹形図で表したものを図 3-3-3-13 に示す。フィプロニルのように限られた場所や季節にのみ出現する農薬がある一方、ジノテフランのように花粉・蜂蜜ともに多くのサンプルで検出される場合、ダイアジノンのように花粉で広く検出される場合、クロチアニジンのように主に蜂蜜で検出される場合など、農薬の種類によって検出傾向は異なった。階層的クラスタ分析の結果、各サンプルは花粉と蜂蜜の間で大きく二つのグループに分かれる事が明らかになった (図 3-3-3-13 左)。例外はあるものの、本図の上部のクラスタには花粉が、下部には蜂蜜のサンプルが集約されている。花粉クラスタ内では場所と季節それぞれが細かいクラスタを作っている一方、蜂蜜クラスタ内では花粉ほど地点や季節ごとにクラスタ化される傾向はなかった。また、各農薬間のクラスタ化 (図 3-3-3-13 上) では、ピレスロイド系のエトフェンプロックスが、ネオニコチノイド系のチアメトキサム、イミダクロプリド、クロチアニジンと同じクラスタに出現し、農薬の作用系統で一貫した傾向は見られなかった。



図 3-3-3-8. 花粉トラップ。巣箱の入り口に取り付ける。花粉荷をつけて帰巢したハチが上部の黒い差し込み板に空いた穴を通り抜ける際に、花粉荷が落下し、下部の引き出しに蓄積する仕掛け。

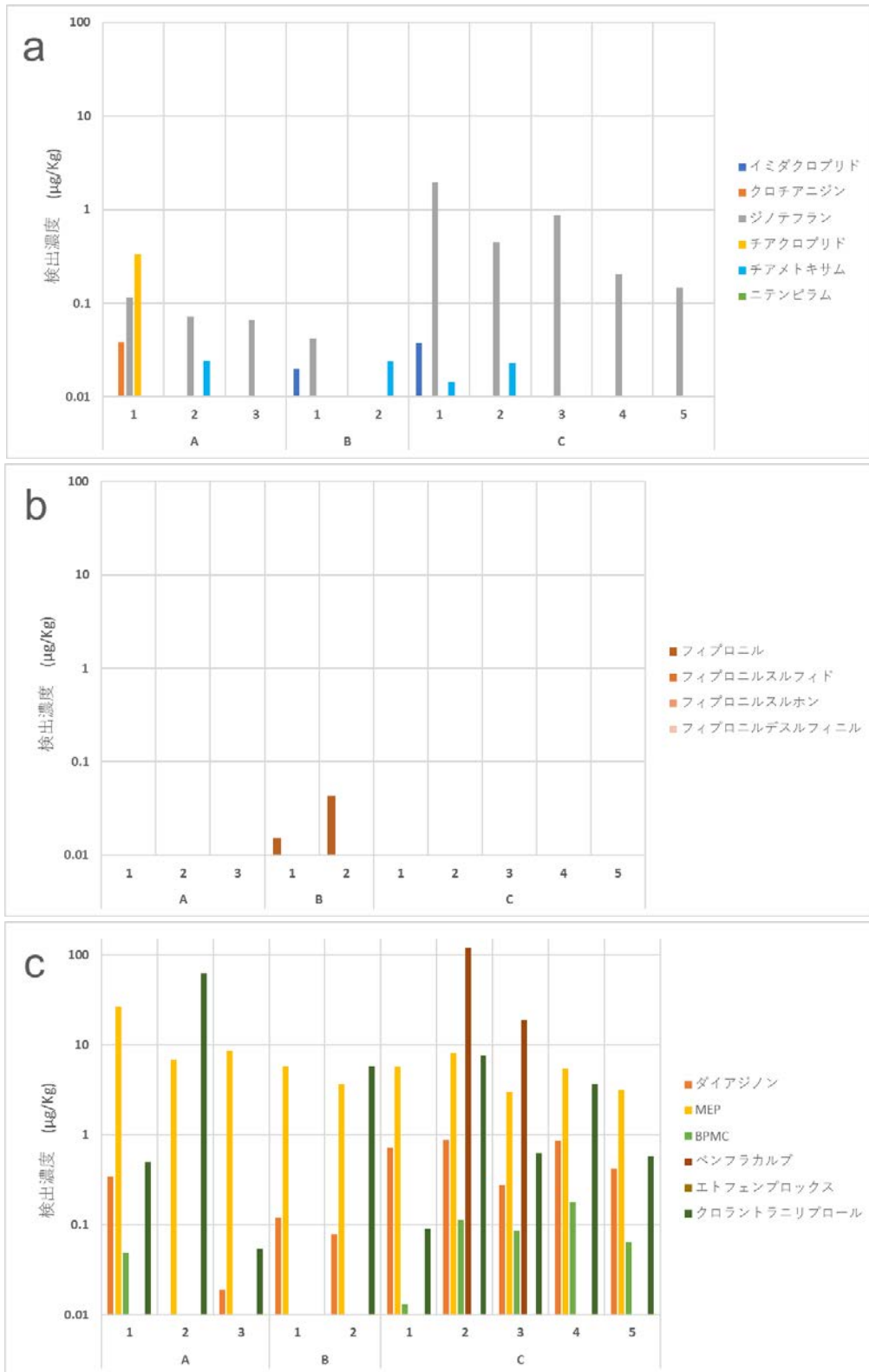


図 3-3-3-9. つくば市内の3地点(A-C)で夏に採集した花粉中のネオニコチノイド系 (a)、フェニルピラゾール系 (b)、その他の農薬 (c) の各検出濃度

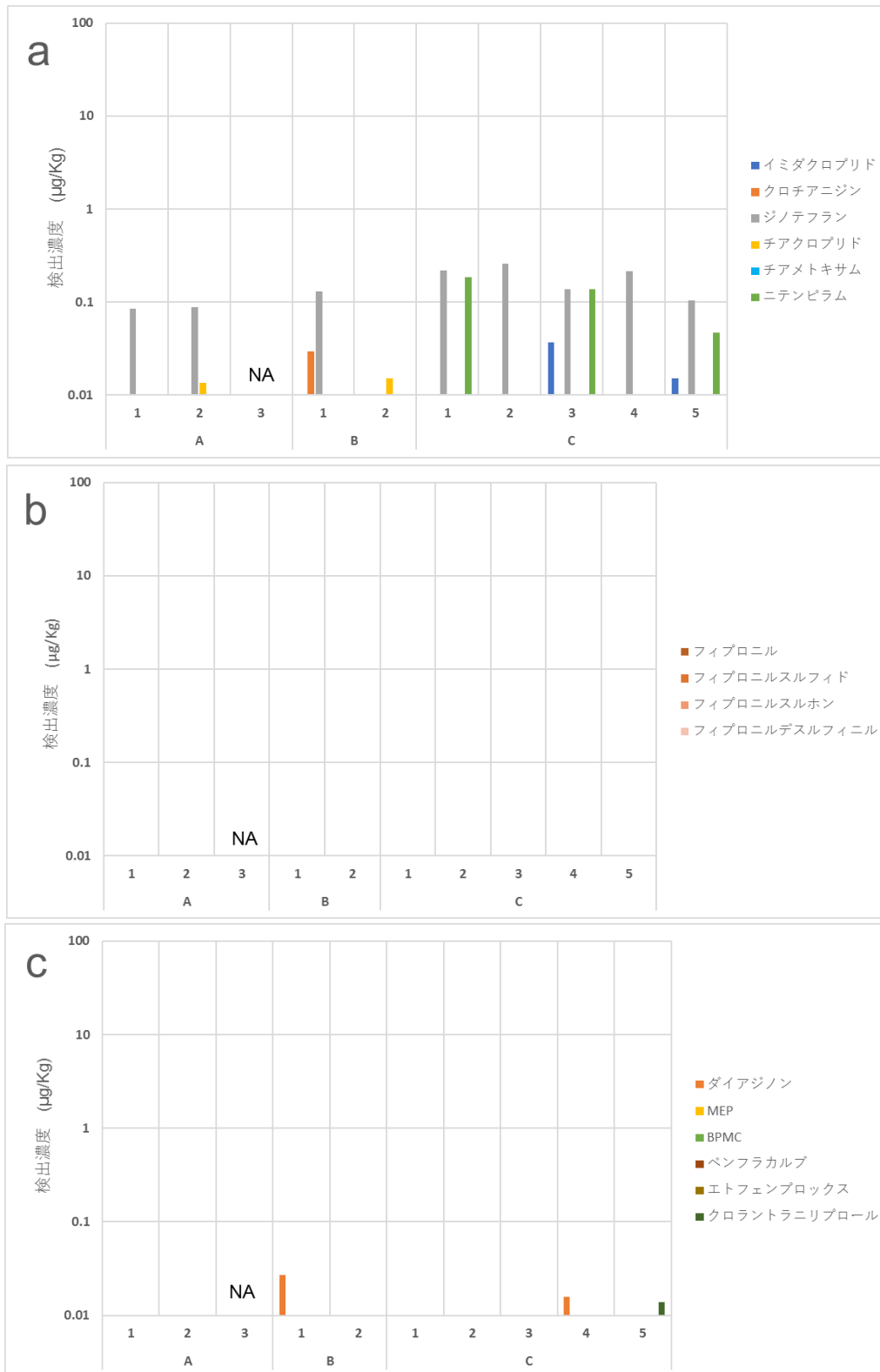


図 3-3-10. つくば市内の 3 地点(A-C) で夏に採集した蜂蜜中のネオニコチノイド系 (a)、フェニルピラゾール系 (b)、その他の農薬 (c) の各検出濃度。NA : 該当試料なし

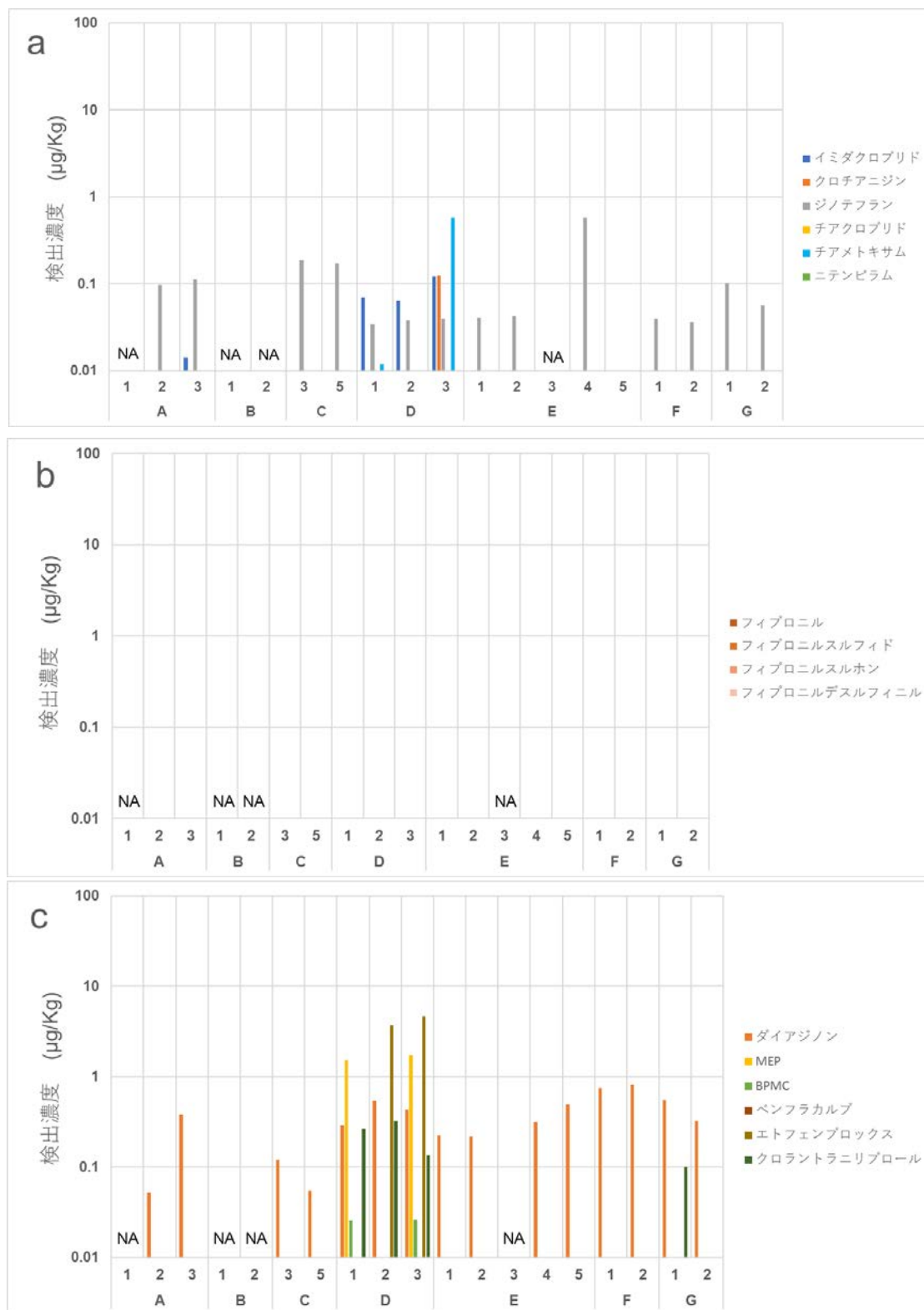


図 3-3-3-11. つくば市内の 7 地点 (A-G) で秋に採集した花粉中のネオニコチノイド系 (a)、フェニルピラゾール系 (b)、その他の農薬 (c) の各検出濃度。NA : 該当試料なし

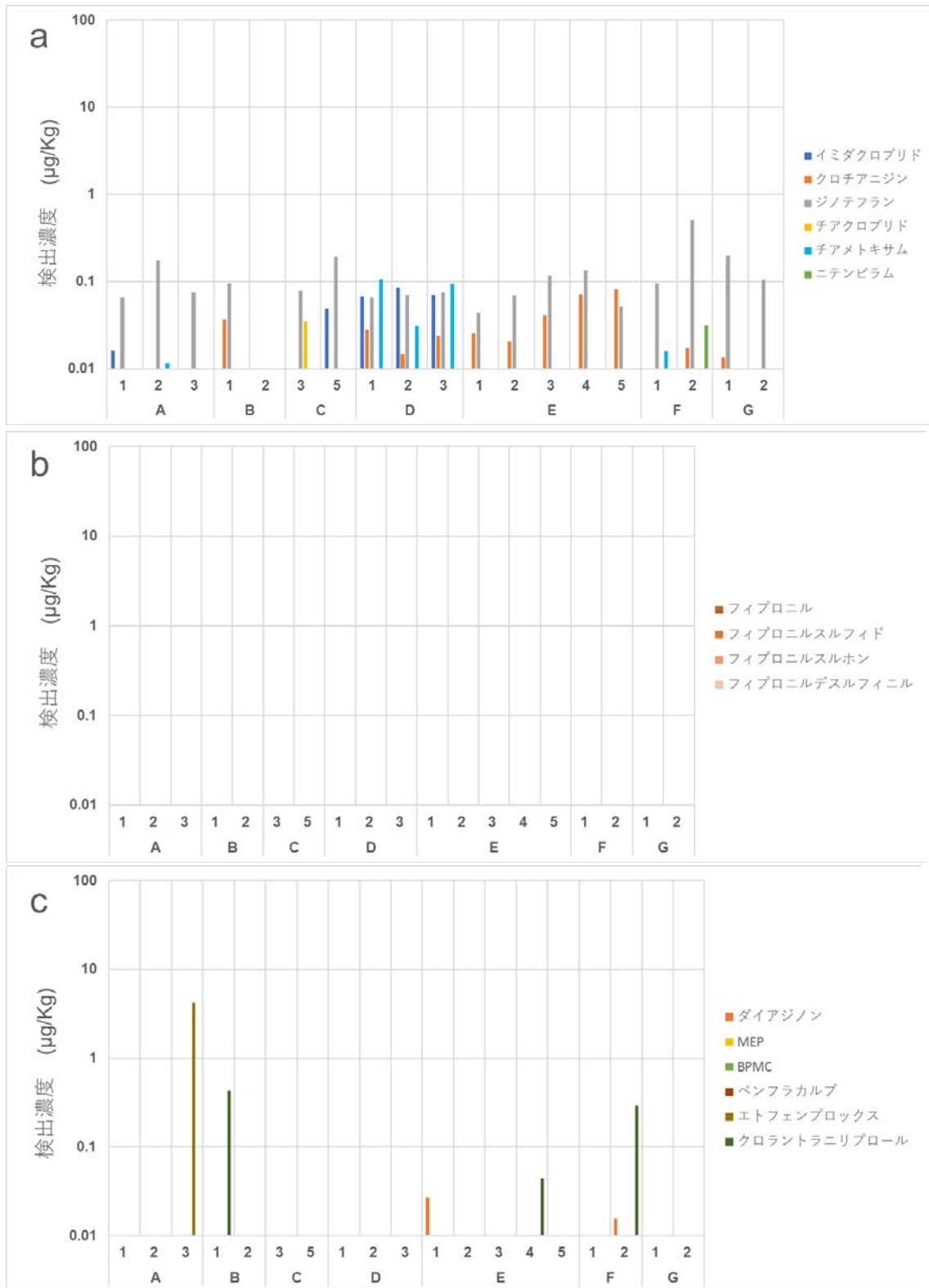


図 3-3-3-12. つくば市内の 7 地点(A-G)で秋に採集した蜂蜜中のネオニコチノイド系 (a)、フェニルピラゾール系 (b)、その他の農薬 (c) の各検出濃度

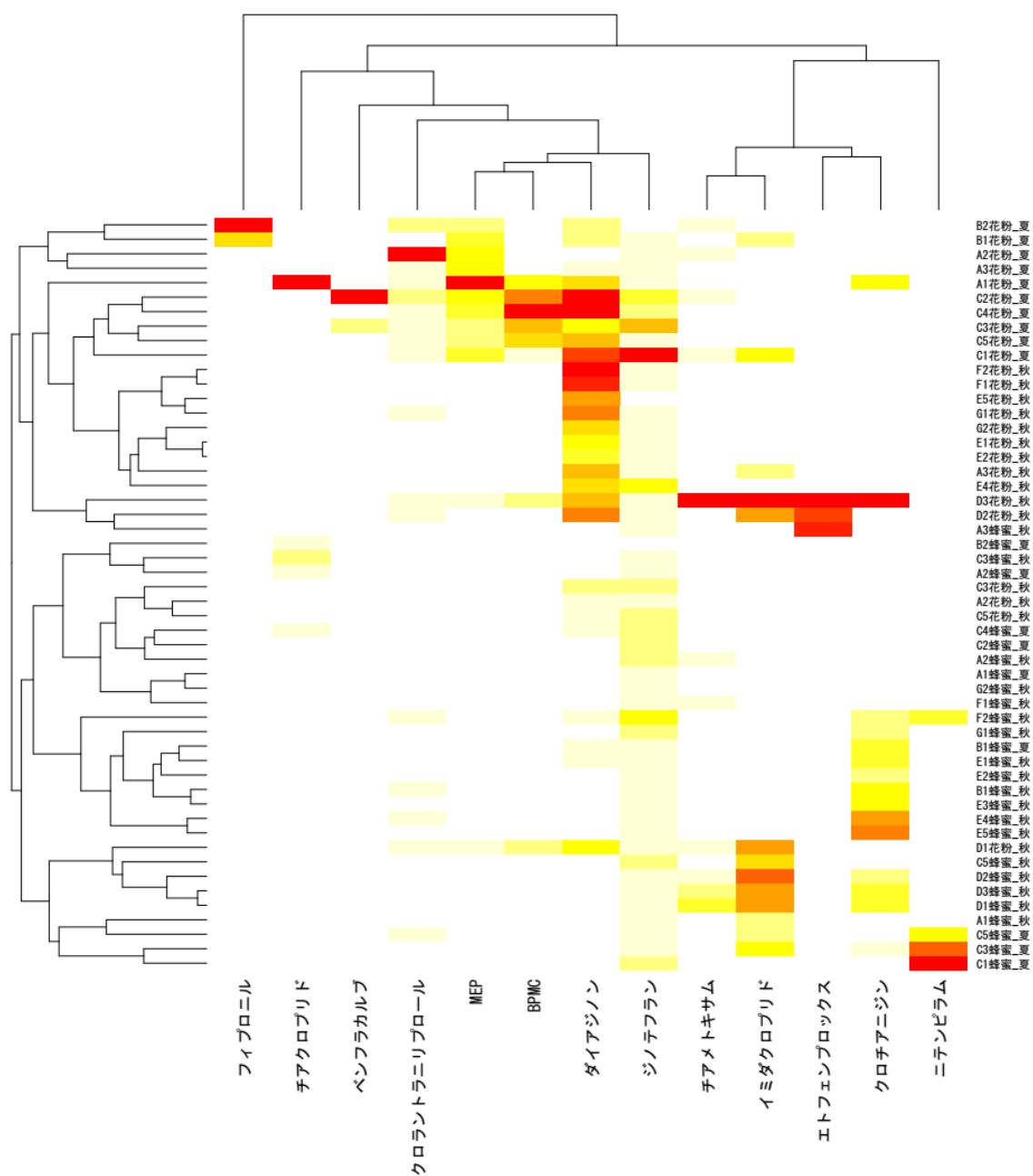


図 3-3-3-13. 検出濃度を農薬毎に 0-1 間の値で標準化し、各地点での濃度を濃淡差で表示したヒートマップ。サンプル間の農薬群集組成の類似度を表した樹形図を左に、農薬間の出現類似度を表した樹形図を上配置。

3-3-4 野生ハチ類の生息に影響を及ぼすことが考えられる周辺環境調査

(1) 国立環境研究所圃場で実施したナス栽培とマルハナバチへの曝露調査（模擬調査）

本項では、周辺環境調査を実施しなかった。

(2) 神奈川県 4 圃場のナス畑周辺におけるマルハナバチへの曝露調査（野外マルハナ調査）

① 方法

まず、圃場周辺における農薬利用からの農薬曝露を評価するため、8月31日から9月6日の間に、周囲の農作物作付け状況を実地調査した。それぞれの圃場を中心とした半径500mの調査地域を設定し、その中を自動車でくまなく探索し、栽培されている農作物の種類と場所を地図上に記録した。その後グーグルマップ（Google, USA）を用いてそれぞれの農作物の作付面積を算出した。なお横須賀のY圃場とMT圃場は近距離に位置しているため同一圃場として調査を行い、コロニーの設置が出来なかったN圃場は調査対象から除去したため、Y-MT圃場（図3-3-4-1）とMZ圃場（図3-3-4-2）の2箇所のみ調査対象とした。

次に、圃場周辺の森林や草地そして都市域が野性ハナバチ相に与える影響を評価するため、GISによる土地利用状況調査を行った。土地利用データは提供機関により、データの取得年代や解像度、精度そして区分が異なる。より一般的な傾向を把握するため、本解析では環境省生物多様性センターが提供する植生図と宇宙航空研究開発機構（JAXA）が提供する土地被覆図を利用した（図3-3-4-3）。以下に二つの土地利用データの詳細を記す。

● 植生図

詳細な土地利用状況を把握する為に、環境省自然環境局生物多様性センターが提供する自然環境保全基礎調査の内、第6-7回植生調査のデータを利用した（<http://gis.biodic.go.jp/webgis/sc-006.html>）。植生図は植生区分の詳細な情報が利用できるが、解像度の最小単位が10,000m²であり現在までのところ1999年から2017年までのデータが混在した状態で提供されている。植生図は植生を約520に細分しているが、本調査では落葉・常緑・植林を問わず林は全て「林」に、休耕の有無を問わず畑地はすべて「畑」、同じく水田はすべて「水田」にまとめることで、8つのカテゴリー（"タケ"、"果樹茶"、"市街地"、"水域"、"水田"、"草地"、"畑"、"林"）に集約したものを利用した。植生図は果樹園など農薬使用を考える上で重要な土地区分の情報を含むものの、データの採取年代が古い場所や解像度がやや粗い地域が存在するなどの問題がある。

● 土地被覆図（衛星データ）

最新の土地利用状況を高解像度で把握する為に、Jaxaの衛星画像による日本域高解像度土地利用土地被覆図を利用した（Ver 16.09, http://www.eorc.jaxa.jp/ALOS/lulc/jlulc_jpn.htm）。土地被覆図は、2006年から2011年の間

に得られた衛星画像と他のデータを併用し、全国各地点およそ 100 m²毎の土地利用状況を水域、都市、水田、畑地、草地、落葉広葉樹、落葉針葉樹、常緑広葉樹、常緑針葉樹、裸地、氷雪の 11 に区分した形で提供されている。土地被覆図は最近の土地利用状況が細かいスケールで把握出来るものの、果樹園なども森林に区分されるなどの欠点が存在する。

上記の植生図並びに土地被覆図から神奈川県 Y 圃場、MT 圃場、MZ 圃場周辺の土地利用を GIS (R の raster パッケージ) を用いて抽出した。マルハナバチの通常採餌範囲と最大範囲内での景観を調べるため、各圃場の中心点より半径 500 m そして 2000 m の円を作成し、その内側に存在する全ての土地利用区分の面積を算出した。

② 結果

半径 500 m 以内の農作物調査の結果、Y 圃場と MT 圃場の周辺の農作物は、全体ではサトイモ (面積比率 32.7%) の作付面積が最も大きかったものの、調査時に開花していた作物中ではナス (22.5%) が最大であることが明らかになった (図 3-3-4-4)。一方 MZ 圃場周辺では、全体ではコメ (24.6%) の作付面積が最大であり、ナシやクリといった果樹やサトイモなどが続いた。調査時に開花していた農作物の中ではナスの作付面積が最大であったが、全体の 7.3% を占めるに過ぎなかった (図 3-3-4-5)。

図 3-3-4-3 に、GIS を用いた土地利用調査による神奈川県全体の植生図並びに土地被覆図を示す。半径 500 m 以内の土地利用をみると、植生図・土地被覆図とも横須賀の Y 圃場と MT 圃場では畑と水田が多く見られる一方、平塚 MZ 圃場では林が最も多く見られた (図 3-3-4-6a、図 3-3-4-7a)。植生図の情報では横須賀の MT と Y では水田の面積が一定の割合を示しているにも関わらず、土地被覆図では水田の面積は限定的であり、その分畑が大きな比率を占めていた。半径 2000 m 以内の土地利用は植生図・土地被覆図いずれにおいても、全ての圃場周辺で林の比率が最も高くなった。また 2000 m では、都市域が占める面積の大きさが植生図のデータにおいて際立って高い傾向が見られた。



図 3-3-4-1. 神奈川県横須賀市 Y 圃場と MT 圃場の位置。円の半径は 500 m。



図 3-3-4-2. MZ 圃場の位置。円の半径は 500 m。

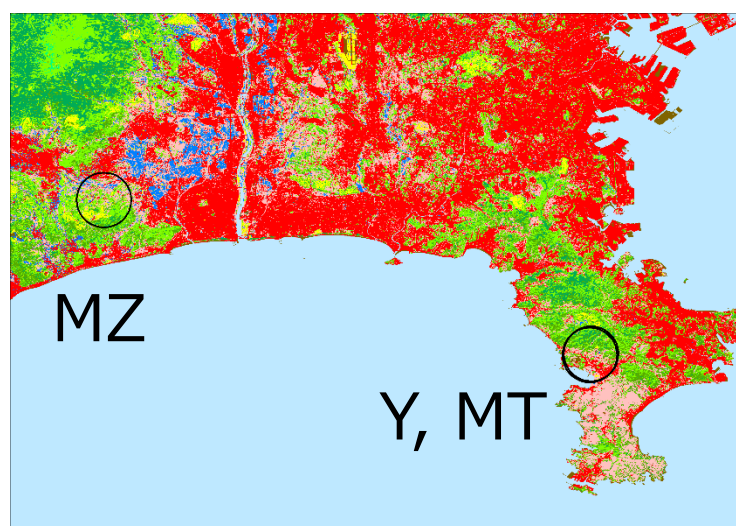
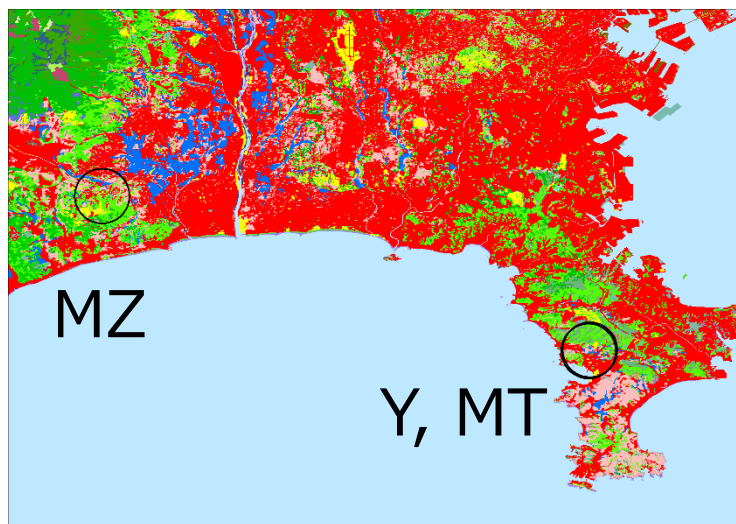


図 3-3-4-3. 植生図（上）、土地被覆図（下）による土地利用概況

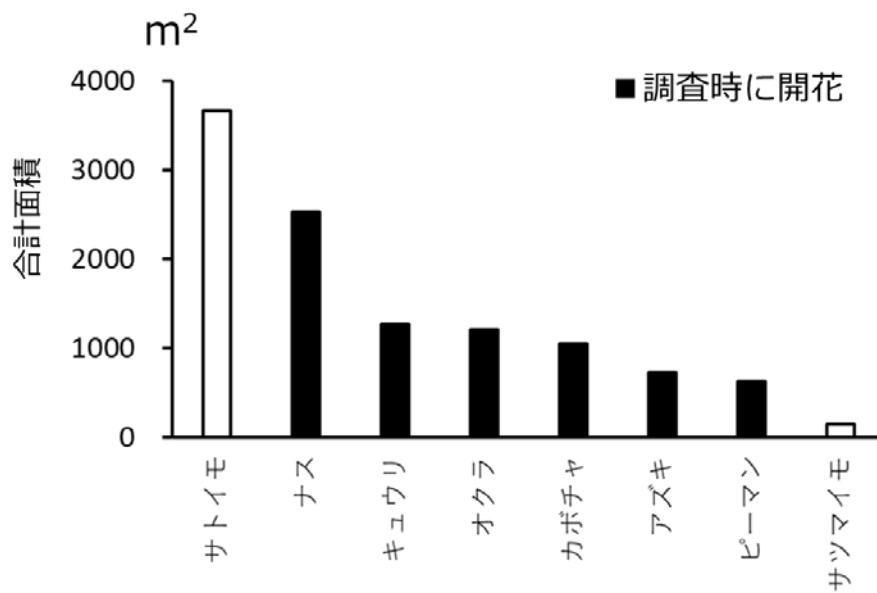


図 3-3-4-4. Y 圃場および MT 圃場を中心とした半径 500 m 以内の範囲に見られた農作物の合計作付面積。調査時に開花していたもの (■) としていないもの (□)。

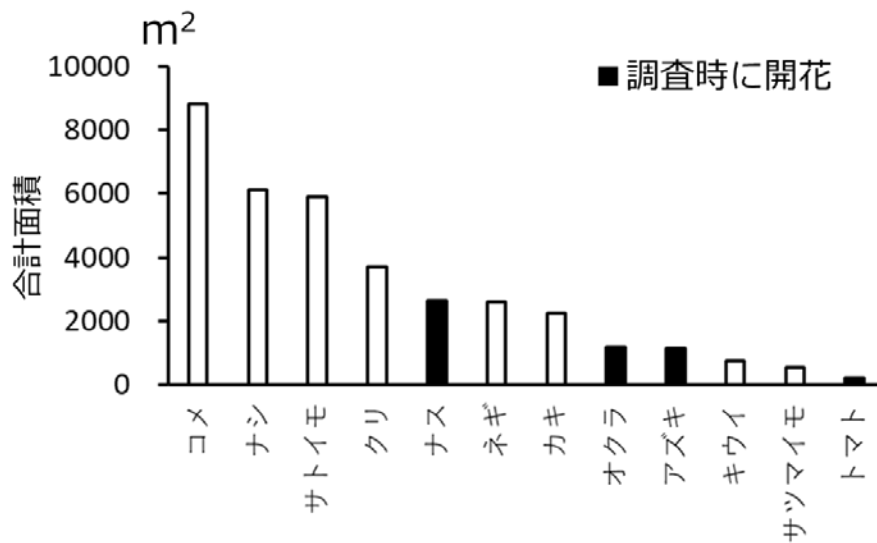


図 3-3-4-5. MZ 圃場を中心とした半径 500 m 以内の範囲に見られた農作物の合計作付面積。調査時に開花していたもの (■) としていないもの (□)。

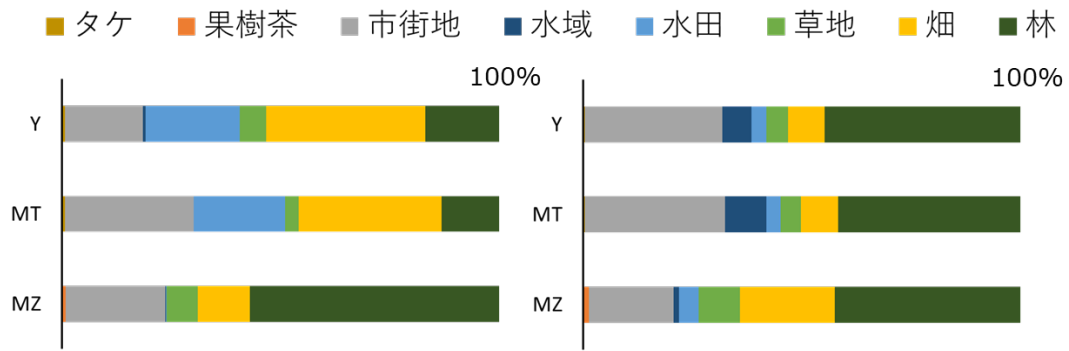


図 3-3-4-6. 植生図を元に計算した圃場を中心とした半径 500 m(左)、および半径 2000 m(右)内における土地利用概況

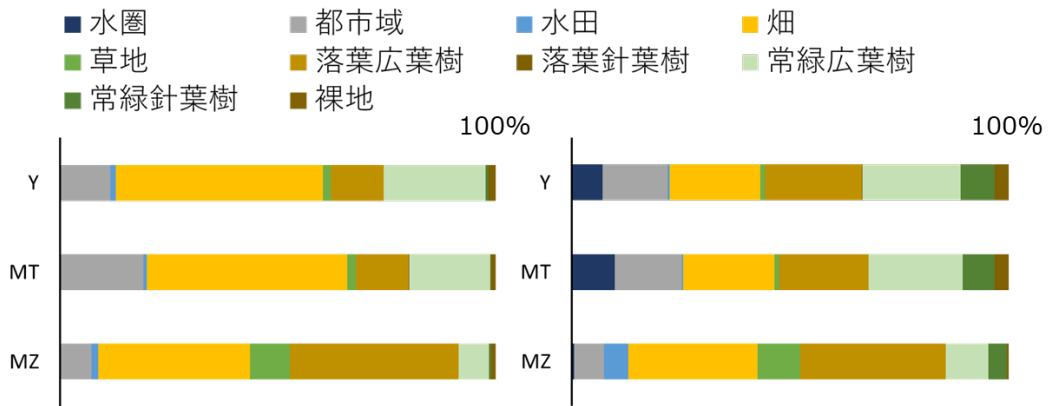


図 3-3-4-7. 土地被覆図を元に計算した圃場を中心とした半径 500 m (左)、および半径 2000 m (右) 内の土地利用概況

(3) 茨城県つくば市内におけるミツバチへの曝露調査（野外ミツバチ調査）

野外ミツバチの周辺環境調査では、植生図（章 3-3-4（2）参照）の情報を利用して、採集場所である巣箱からの距離別（半径 100 m、250 m、500 m、2000 m 内）に土地利用概況を集計した。本調査では比較的狭い範囲で多くの調査地点が存在するため、より詳細な土地利用状況が把握できる植生図を利用の方が現状を正確に把握出来ると期待される。

図 3-3-4-8 に、各地点の土地利用概況の集計を示す。調査面積が小さいほど、各周辺環境の差が大きくなることわかる。特に、農薬の検出数・濃度ともに高かった地点 C では果樹茶が、地点 D では畑や草地在他地点よりも多く、その差は半径 250 m から 500 m の間で顕著に見られた。

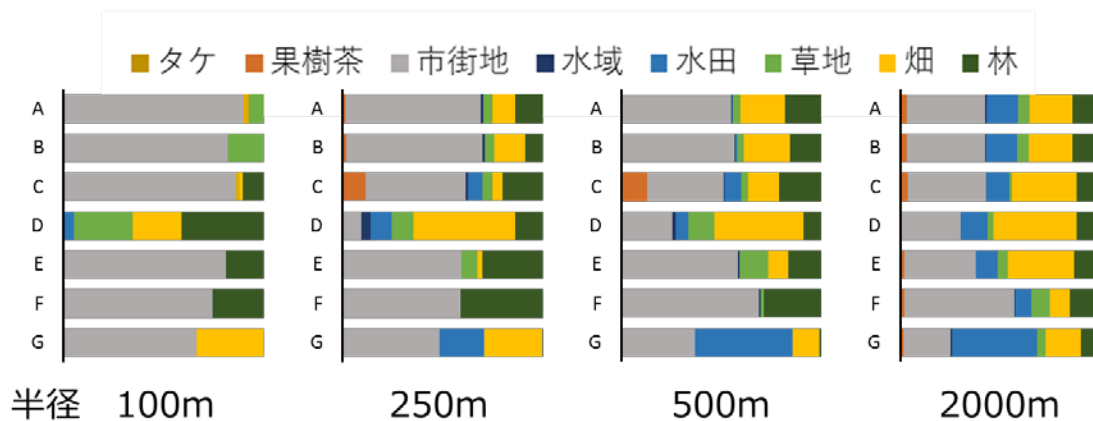


図 3-3-4-8. 各調査地点 A-G の半径 100 m から 2000 m 内における土地利用概況

3-3-5 周辺環境が農薬の残留組成に及ぼす影響評価に関する統計解析

本項では、各調査地点における農薬の検出結果（章 3-3-3）と調査地点の周辺における土地利用状況の集計結果（章 3-3-4）を利用して、周辺環境が農薬の残留組成に及ぼす影響について考察する。

① 方法

まず、各農薬の検出下限値未満の値は全てゼロ（検出されず）とした上で、農薬間の比較を容易にするために、各農薬の濃度を最小値 0 から最大値 1 の間の数値となるよう標準化した。その上で、各サンプルにおける農薬の出現濃度を生物の出現頻度になぞらえ、農薬群集の分析を行った。その際、測定対象の農薬が検出されなかったサンプルは群集解析が不可能なため除外した。神奈川県における野外マルハナ調査では、花粉ポットとコロニー巣材に含まれる農薬および圃場内の作物、土壌、周辺雑草に含まれる農薬群集組成を多変量解析の一種、非計量多次元尺度構成法（NMDS）を用いて、各農薬群集を相対的な類似性を基に二次元に配置した。そしてクラスター分析の一種である k 平均法を用いて各サンプルを 4 つに分類し、それぞれのクラスターにおいて高い頻度で検出された農薬種（以下、指標種）を選定した。続いて各地域の土地利用状況と作物の作付け面積が花粉ポットとコロニー巣材の農薬群集組成に与える影響を評価するため、冗長性分析（Redundancy Analysis、以下、RDA）を行った。まず、各調査地点の周辺環境の差をもっともよく示していると考えられた半径 500 m 円内の土地利用状況を百分率で表し、周辺 500 m の各農作物の作付け面積を加えた上で、花粉ポット並びにコロニー巣材の農薬組成との間の類似性を RDA により評価した。

つくば市内における野外ミツバチ調査では各地点・季節・サンプルの種別（花粉もしくは蜂蜜）の違いからくる農薬の出現傾向と地点間の類似性を見るために、マルハナバチでの解析と同様に、NMDS により各農薬群集を二次元に配置し、k 平均法を用いて各サンプルを 5 つのクラスターに別けた上で、それぞれのクラスターの指標種を選定した。そして各地域の土地利用状況が花粉および蜂蜜の農薬群集組成に与える影響を評価するために、各調査地点の周辺環境の差をもっともよく示していると考えられた半径 250 m 円内の土地利用状況を百分率で表し、RDA により各地点の農薬群集組成と土地利用の類似性を評価した。

② 結果

野外マルハナ調査における NMDS による農薬群集組成からみた各サンプルの二次元配置図を図 3-3-5-1 に示す。MZ 圃場と Y 圃場の花粉ポットからはダイアジノンのみが検出されたため、この 2 サンプルは、圃場は異なるもののダイアジノンを指標種とする同じグループに属している。また、同様に MZ 圃場と Y 圃場のコロニー巣材は、花粉ポットと同じダイアジノンのグループに属していたが、MT 圃場のコロニー巣材はアセタミプリドを指標種とする別グループに属している。花粉ポッドやコロニー巣材が巣の周囲から集められるのであれば、周辺土壌あるいは雑草や作物における農薬群集も花粉ポッドやコロニー巣材同

様に圃場間あるいはサンプル間でクラスターがまとまると期待されたが、一貫した出現傾向は見られず、クラスターがまとまる事はなかった。農薬群集組成と半径 500 m における土地利用と農作物の作付け面積の間で RDA を行った結果を図 3-3-5-2 に示す。花粉ポットや巣材から検出された農薬はダイアジノンとアセタミプリドの 2 種に限られ、統計的に有意な結果や意味のある傾向は検出できなかった。ただし、傾向が見られなかった要因の一つとして、解析対象となるサンプル数および農薬数が十分でなかったことが挙げられ、今後は統計処理に耐え得るサンプル数を確保し、さらなる分析の必要性が示された。

次に、野外ミツバチ調査の農薬群集組成からみた、NMDS による二次元配置図を図 3-3-5-3 に示す。蜂蜜の多くは緑色で表されるグループに属し、クロチアニジンはほぼ蜂蜜からのみ検出されたことから、このグループの指標種と判断された。花粉の多くは黒色で表されるグループに属し、ダイアジノンが高濃度で花粉から検出されたことから指標種となった。一方でジノテフランが指標種とされたグループは花粉・蜂蜜の両方が含まれ、またチアクロプリドとエトフェンプロックスはそれぞれ 1 サンプルが固有のクラスターを形成していた。農薬群集組成と半径 250 m における土地利用の間で RDA を行ったところ、花粉から検出された農薬では、ジノテフラン、ニテンピラム、BPMC が果樹茶園と、イミダクロプリド、チアメトキサムが河川や用水路あるいは池といった水域と、エトフェンプロックスが畑や草地とそれぞれ関連し、検出農薬と周辺土地利用に一定の傾向が示された (図 3-3-5-4)。つまり、上述の農薬種がそれぞれの土地カテゴリーにおいて検出頻度が高かったことが確認された。果樹茶園は主に地点 C の巣箱周辺に多く、水域、畑や草地などは地点 D に多い傾向が見られた (図 3-3-5-4)。一方で、蜂蜜からの検出農薬は量が少なかったため図の中央部に集中した。図の中央部を拡大したが、地点 D のサンプル以外、明確な傾向は見られなかった (図 3-3-5-5)。

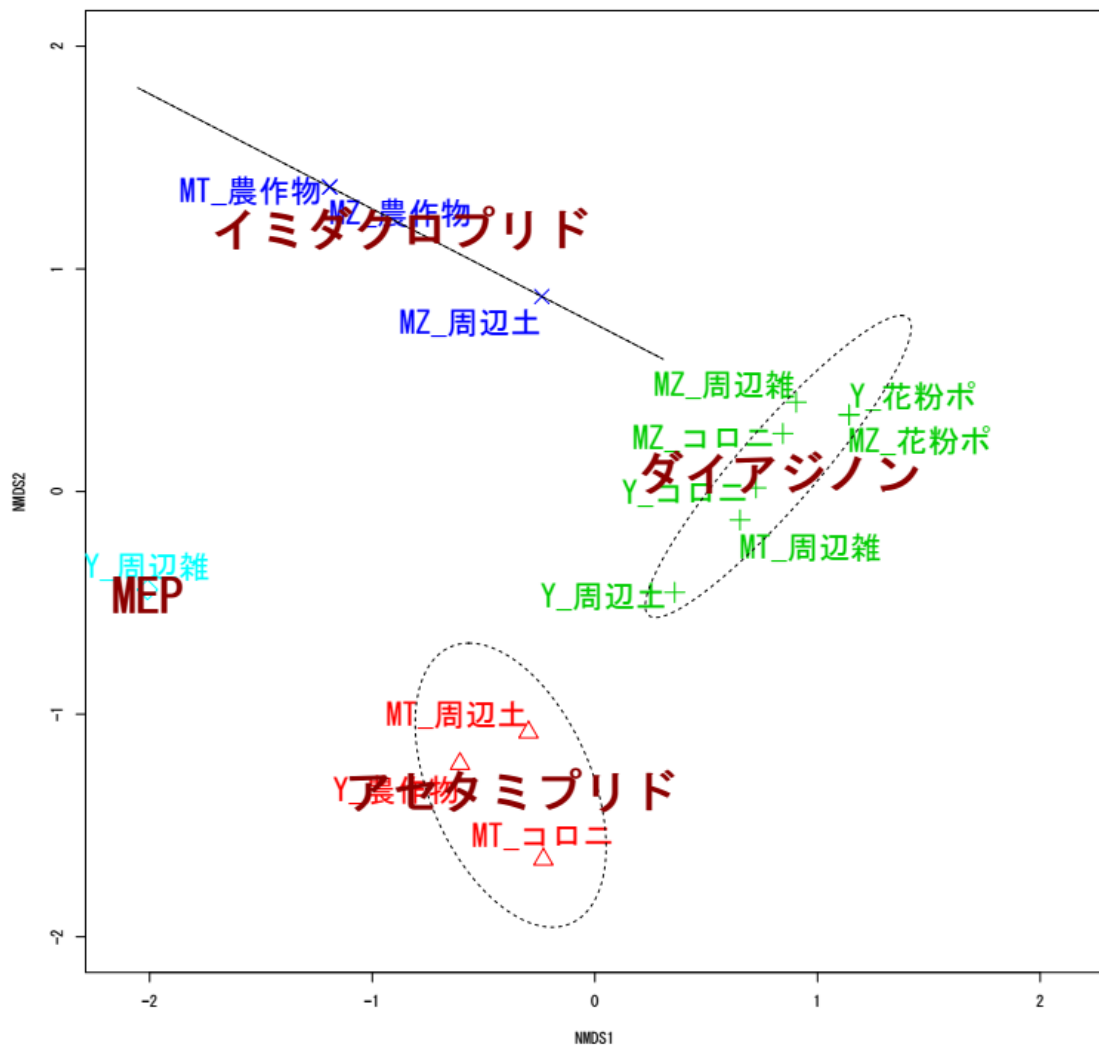


図 3-3-5-1. 神奈川県野外マルハナ調査サンプルの農薬群集組成に対する NMDS による二次元配置図。k 平均法を用いて 4 つのグループに分類し、各グループの指標種となる農薬を表示した。

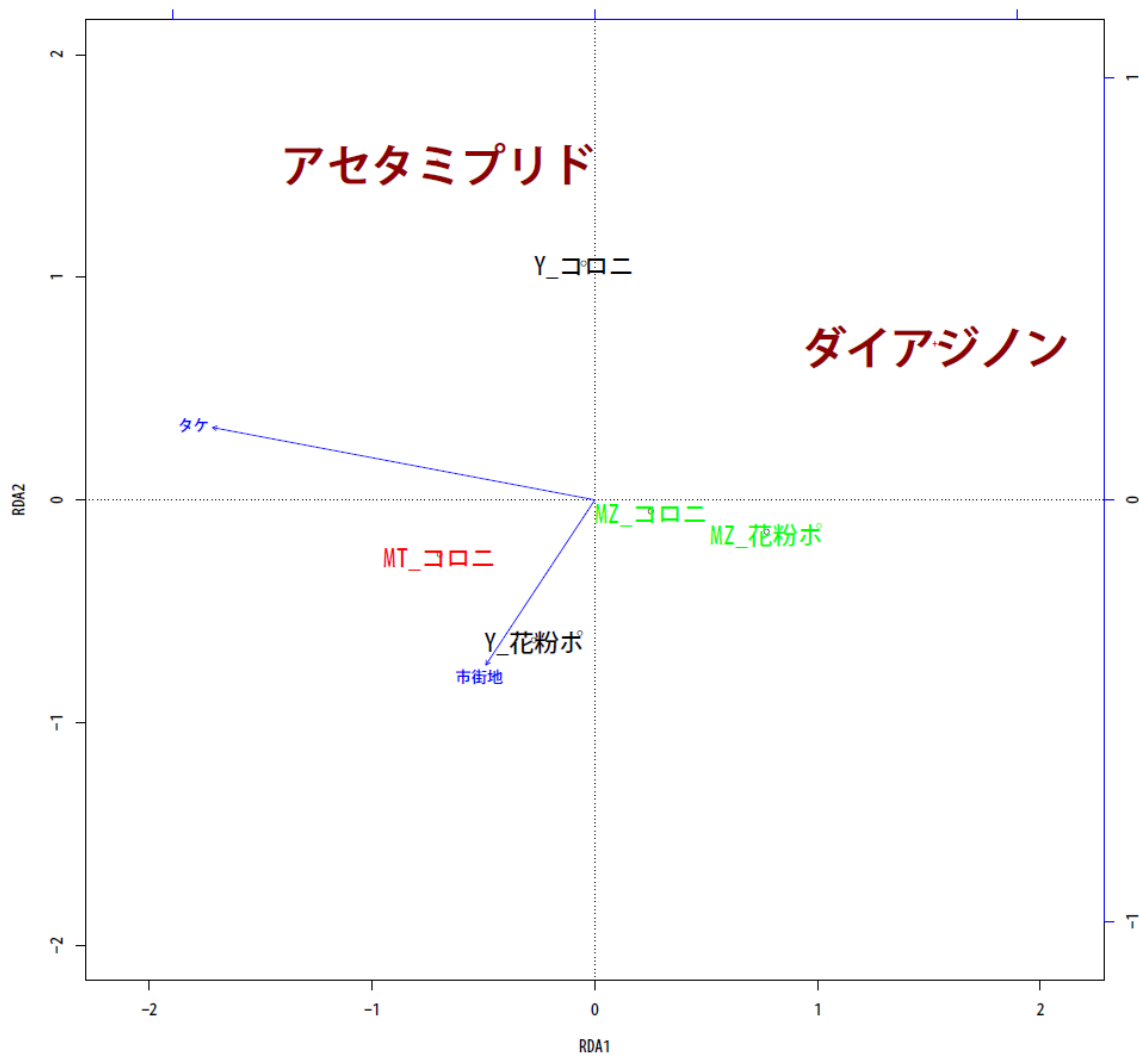


図 3-3-5-2. 神奈川県野外マルハナ調査サンプルの農薬群集組成（茶色）と周辺環境要因（図中青色の矢印）の間における RDA 分析結果の二次元配置図。RDA の軸 1 により全体の 74.97% の、軸 2 により 12.3% の分散が説明される。サンプルは地点毎に色分けしている。

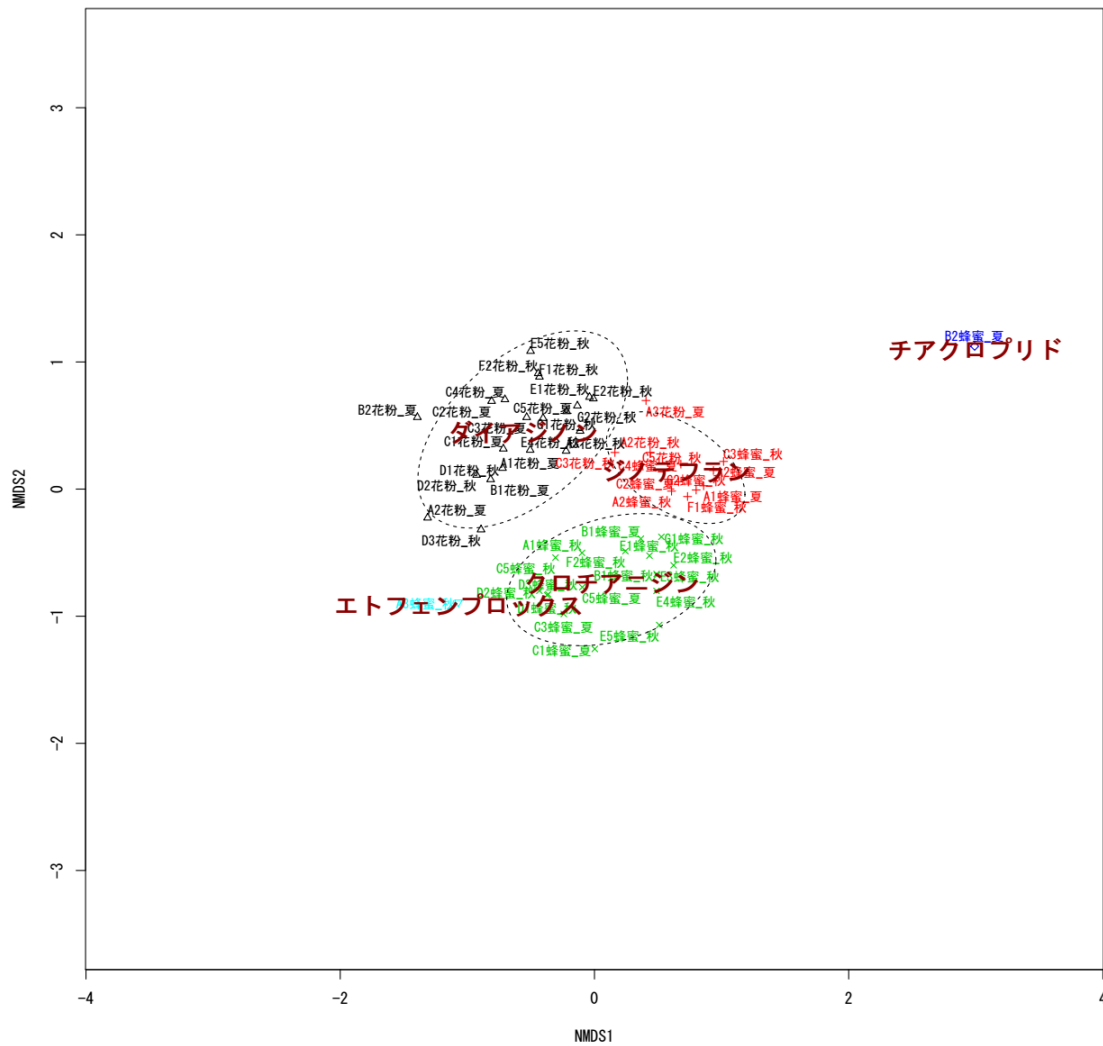


図 3-3-5-3. つくば市内の野外ミツバチ調査サンプルの農薬群集組成に対する NMDS による二次元配置図。k 平均法を用いて 5 つのグループに分類し、各グループの指標種となる農薬を表示した。

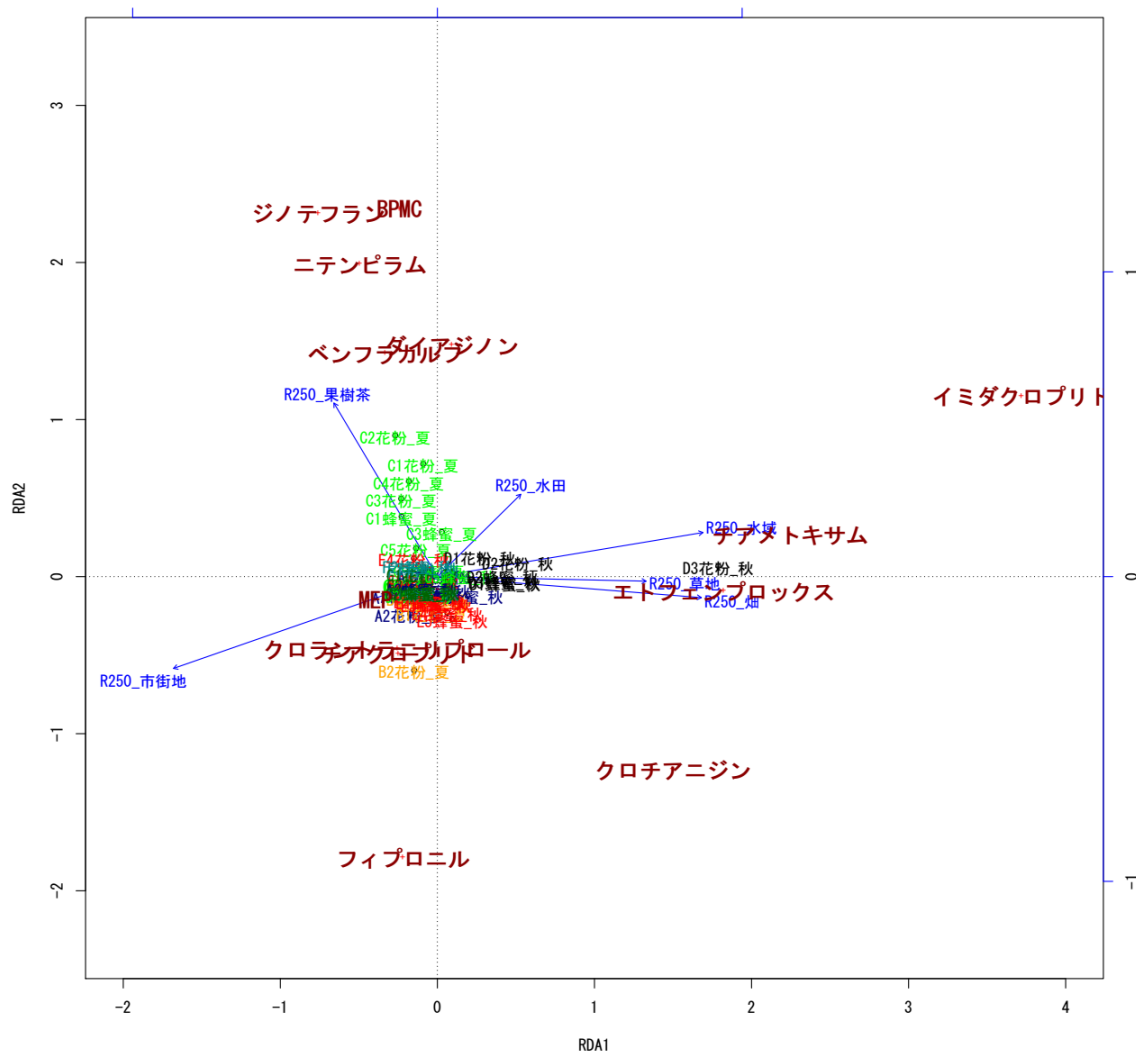


図 3-3-5-4. つくば市内の野外ミツバチ調査サンプルの農薬群集組成（茶色）と周辺環境要因（図中青色の矢印）の間における RDA 分析結果の二次元配置図。RDA の軸 1 により全体の 50.25%の、軸 2 により 23.99%の分散が説明される。サンプルは地点毎に色分けしている。

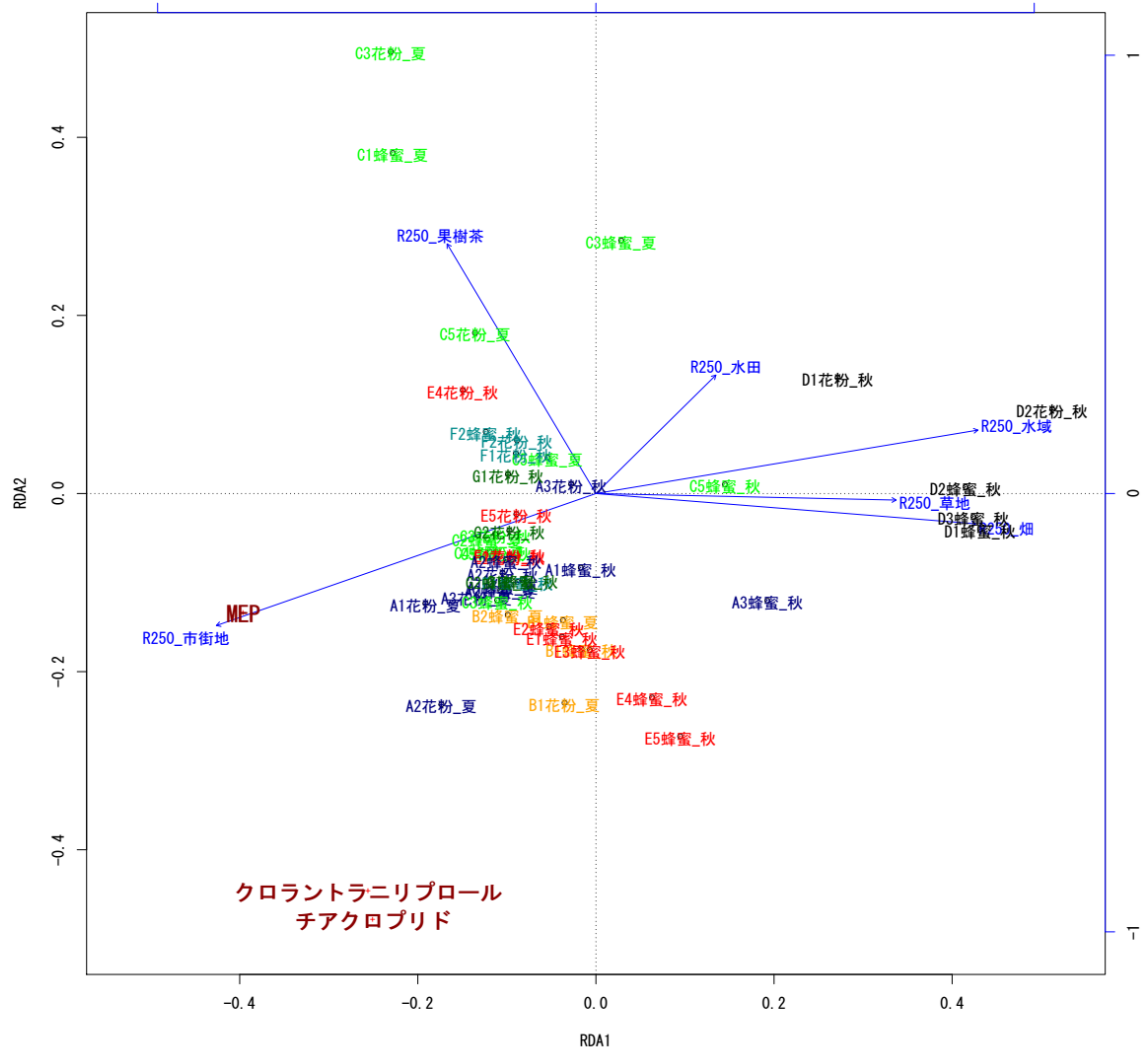


図 3-3-5-5. 図 3-3-5-4 の中心部を拡大した図

3-4 野生ハチ類への曝露影響に関する考察

クロマルハナバチの急性経口・接触毒性値を、先行研究のセイヨウミツバチのものと比較したところ、一部の例外を除き、概ね同等レベルであった（章 3-2-1 参照）。しかし、クロマルハナバチの体サイズがセイヨウミツバチよりも大きいことを考慮すると、同等のLD₅₀であっても、単位重量あたりの毒性値はクロマルハナバチのほうが小さい。野外マルハナ調査におけるナスへの訪花昆虫調査（章 3-3-2 参照）では、マルハナバチ類以外にコハナバチ属 *Lasioglossum* を含む 8 種の野生ハチ類が訪花していることが確認され、これらの体サイズはクロマルハナバチよりも小さく、野生ハチ類への毒性が体サイズに比例していると仮定すると、特に小型のハチ類への曝露リスクが増大する可能性が示唆された。それに加え、Yasuda et al. (2017) では、野生ハチであるニホンミツバチの急性接触毒性値がセイヨウミツバチよりも 10 倍程度高いことが示されており、セイヨウミツバチの毒性値を野生ハチ類に代用することについては慎重な議論を要するものと考えられた。

模擬調査および野外マルハナ調査（章 3-3-3 参照）から、ナスおよび土壌におけるおおよその農薬残留傾向が明らかになった。浸透移行性の高いネオニコチノイド系農薬および有機リン系のアセフェートは、花粉や果実から検出されたのに対し、浸透移行性の低い有機リン系のダイアジノンや MEP はそれらから検出されなかった。ナス花粉から検出された濃度はジノテフランで 273 µg/kg (ppb)、アセフェートで 0.4 µg/kg であったが、調査時期や天候の問題により設置したマルハナバチが採餌に訪れず、これらの農薬が花粉ポットからは検出されなかったため、マルハナバチへの曝露状況は明らかにならなかった。一方、野外ミツバチ調査では、ネオニコチノイド系で最大 1.94 µg/kg (ジノテフラン)、その他の農薬で最大 120 µg/kg (ベンフラカルブ) がミツバチの花粉荷から検出され、全体の傾向としてもその他の農薬の方がネオニコチノイド系よりも 10~100 倍高い濃度を示した。例えば、セイヨウミツバチの個体レベルの急性経口毒性値は、ジノテフランでは 0.02 µg/bee (48 時間)、ダイアジノンで 0.2 µg/bee (24 時間) と報告があり (ECOTOX; U.S. Environment Protection Agency (<http://cfpub.epa.gov/ecotox/>))、今回の曝露濃度と花粉消費量 (育児バチで最大 12 mg) から 1 個体あたりの曝露量を算出すると、いずれも上述の急性接触毒性値よりは低かった。ただし、先行研究では、死亡するには至らない量 (亜致死量) の曝露であっても、帰巣能力の低下 (Henry et al. 2012) やにおい学習能力の低下 (Decourye et al. 2004) が引き起こされる等の、コロニー全体の挙動に影響を及ぼす可能性が指摘されている。実際に、本事業のクロマルハナバチのコロニーに対する毒性試験 (3-2-1 参照) において、フィプロニルを 2 ppb 濃度で含有する花粉を投与した場合に、対照区に比べて生存個体が大きく減少、および次世代の生産が抑制されたこと、また、先行研究においてイミダクロプリドの数 ppb レベルの曝露で、セイヨウミツバチ幼虫の代謝が減少することや (Derecka et al. 2013)、セイヨウオオマルハナバチ女王の産卵数が 30% 減少すること (Laycock et al. 2012) が知られている。このように、野外で観察され得る低い値 (Sanchez-Bayo and Goka 2014) でコロニーレベルの影響がでていることから、コロニー試験を実施する重要性も示唆された。

また、野外ミツバチ調査（章 3-3-3 参照）では、花粉と蜂蜜間で異なる農薬が検出され、特に、ネオニコチノイド系農薬（例えばジノテフラン）は花粉と蜂蜜の両方から、その他の農薬（例えばダイアジノン）では花粉のみから検出される傾向にあった。このような傾向の差が見られたのには以下の要因が考えられる。まず、花粉と蜂蜜では巣内に持ち込まれた時期に差がある。花粉と蜂蜜はいずれも同日に採集したが、花粉は採集当日に帰巣バチが野外から持ち帰ったもの、蜂蜜は貯蜜圏から採集したもののため持ち込まれた時期は不明である。そのため、ミツバチが花蜜を採集した時期に農薬の散布が盛んではなかった可能性、あるいは農薬の種類によっては、巣内で保存されている間に分解したためターゲットとして検出されなかった可能性が考えられた。次に、花粉と蜂蜜間で異なる傾向となった要因として、ネオニコチノイド系農薬とその他の農薬間の花粉や花蜜への浸透移行性の差に起因する可能性が考えられた。しかし、有機リン系のダイアジノンや MEP では、植物体内で浸透移行して花粉や花蜜に残留することは知られておらず、本事業の模擬調査においても、ダイアジノンの土壌施用を行ったナスの花粉（葯）や果実から当該物質は検出されていない（3-3-3 参照）。ただし、ダイアジノン水和剤では、果樹や野菜等において開花期の散布が認められているため、花粉が直接曝露される状況が想定される。実際に海外の事例では、ダイアジノンを散布したリンゴ園にミツバチの巣箱を設置した場合に、花粉荷からダイアジノンが高濃度で検出されている（Smodis Skerl et al. 2009）。しかし、本事業の野外ミツバチ調査で季節を問わず多くの地点から検出されたことを考えると、それ以外の主要な曝露経路の存在が示唆される。例えば、ミツバチが体表に付着した花粉を花粉荷としてまとめる際に農薬が花粉以外から混入した可能性等について、今後検討していく必要がある。

さらに、これら野外調査で検出された農薬の群集組成は、サンプリング地点によっては特徴的な傾向が見られ、周辺の土地利用状況との関連性が示唆された。そこで、周辺環境が農薬の残留組成に及ぼす影響についての統計解析を行ったところ、ミツバチの花粉荷では、特定の農薬種が果樹茶園や水域、畑、草地等の周辺土地利用と関連し一定の傾向を示す結果となった（章 3-3-4 参照）。それに加えて、水田や畑地等の里山的景観が、野生ハチ類の生息基盤を支えていると考えられることから、野生ハチ類に対する曝露評価を行う上で周辺環境が重要な要素の一つとなり得、我が国における評価方法の構築にあたっては、海外での調査結果を参考にしつつも、日本独特の景観や土地利用状況を考慮・検討する必要性が示された。

最後に、今後野生ハチ類の分布範囲や生育密度の経時的変化を推定する手法として「種分布モデル」を利用することを踏まえ、それに関わる情報を収集した。ネオニコチノイド系農薬の使用開始がハチ類分布の経時的変化へ与える影響を考慮する手法として、調査対象地域における農薬使用量変化のデータと野生ハチ類の分布情報（モデルによる推定結果）を集め、農薬とハチ類両方の変化を定量的に解析する手法を議論した。併せてこれらの解析に用いるため、各種データベースの情報収集を行った。利用可能な昆虫類分布データと

しては、世界各地の標本データベースや観察データを収集している「GBIF」(<https://www.gbif.org>)、日本国内各地の博物館が所有する標本のデータベース「自然史標本情報」(<http://science-net.kahaku.go.jp>)、国土交通省の「河川水辺の国勢調査」(<http://mizukoku.nilim.go.jp/ksnkankyo/>)、環境省自然環境局の「自然環境保全基礎調査」(http://www.biodic.go.jp/kiso/fnd_list_h.html)などが存在した。各データベースの概略(ハナバチ類データの有無、データ件数、利用の可否など)を調査した所、GBIFや自然史標本情報には大量の分布情報が存在するが(GBIF:128653件、自然史標本情報:24200件)、分布情報に大きな偏りがある可能性が示唆された。河川水辺の国勢調査は日本の一級河川の河川敷のみのデータであり、本研究の対象地域とは異なる可能性があった。また自然環境保全基礎調査はハチ類を対象とはしていなかった。今後各データベースを実際に入手・精査して解析に耐えられるかを調査する予定である。ただし、これらのデータベースを利用した種分布モデルでは、種の在不在の確率を推定する事はできても生育密度の推定はできないため、農薬の影響評価の際にはハチ類の在不在確率を評価する統計モデルを別個作成する必要がある事が考えられる。一方、農薬使用量変化は、都道府県別農薬出荷量を基に計算された推定農薬使用量データが利用可能であるため、それを利用する事を今後検討していく。

3-5 参考文献

- Candolfi MP, Barrett KL, Campbell PJ, Forster R, Grandy N, Huet MC, Lewis G, Oomen PA, Schmuck R, Vogt H (2001) Guidance document on regulatory testing and risk assessment procedures for plant protection products with non-target arthropods. SETAC, Pensacola
- Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, Charreton M, Pham-Delegue MH (2004) Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicol Environ Saf* 57:410-419
- Derecka K, Blythe MJ, Malla S, Genereux DP, Guffanti A, Pavan P, Moles A, Snart C, Ryder T, Ortori C, Barrett DA, Schuster E, Stöger R (2013). Transient exposure to low levels of insecticide affects metabolic networks of honeybee larvae. *PLoS One* 8:e68191.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2013) Guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA Journal* 11:3295
- Henry M, Beguin M, Requier F, Rollin O, Odoux JF, Aupinel P, Aptel J, Tchamitchian S, Decourtye A (2012) A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* 336:348-350
- 環境省 (2006) 水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準 (環境省告示 143 号). URL <http://www.env.go.jp/water/sui-kaitei/kijun.html>
- Koch H, Weisser P (1997) Exposure of honey bees during pesticide application under field conditions. *Apidologie* 28:439-447
- Laycock I, Lenthall KM, Barratt AT, Cresswell JE (2012) Effects of imidacloprid, a neonicotinoid pesticide, on reproduction in worker bumble bees (*Bombus terrestris*). *Ecotoxicology* 21:1937-1945
- Lewis K, Tzilivakis J (2017) Development of a data set of pesticide dissipation rates in/on various plant matrices for the Pesticide Properties DataBase (PPDB). *Data*, 2(3): 28. (IUPAC FOOTPRINT pesticide properties Database)
- 日本植物防疫協会 (2011) 農薬ハンドブック 2011 年版. (社) 日本植物防疫協会, 東京.
- OECD (1998) OECD guidelines for the testing of chemicals, Section 2. OECD, Paris, France.
- R developmental core team (2017) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Sanchez-Bayo F, Goka K (2014) Pesticide residues and bees—a risk assessment. *PLoS One* 9:e94482
- Smodis Skerl MI, Velikonja Bolta S, Basa Cesnik H, Gregorc A (2009) Residues of pesticides in honeybee (*Apis mellifera carnica*) bee bread and in pollen loads from treated apple orchards. *Bull Environ Contam Toxicol* 83:374-377
- Yasuda M, Sakamoto Y, Goka K, Nagamitsu T, Taki H (2017) Insecticide susceptibility in Asian honey bees (*Apis cerana* (Hymenoptera: Apidae)) and implications for wild honey bees in Asia. *J Econ Entomol* 110:447-452

4. 検討会の設置・運営

4-1 検討会組織

農薬の環境影響調査検討会（検討会）は、本事業における各種検討課題について、調査計画及び成果の科学的検討をおこなうことを目的として、専門家の意見を伺うために開催した。検討会の構成は以下の通りである。また、開催要領を次ページに示す。

【検討委員】（五十音順）

稲生 圭哉（国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 ユニット長）

笠井 敦（静岡大学農学部 生物資源科学科 准教授）

横井 智之（筑波大学大学院 生命環境系 助教）

【オブザーバー】

林 岳彦（国立研究開発法人国立環境研究所 主任研究員）

光畑 雅宏（アリスタ ライフサイエンス（株）プロダクトマネージャー）

【事務局】

国立環境研究所 生物・生態系環境研究センター 生態リスク評価・対策研究室

【発注元】

環境省 水・大気環境局 土壌環境課 農薬環境管理室

平成 29 年度農薬の花介昆虫に対する環境影響調査検討会 設置要領

1. 目的

生物多様性減少の主要因の一つとして生息地の破壊・悪化があり、特に汚染物質として農薬等の化学物質の影響評価は生物多様性保全上の重要課題のひとつとされる。特にマルハナバチやニホンミツバチなどの野生ハナバチ類においては、植物の花粉や花蜜を介してこれらの化学物質に高濃度で曝露される可能性が高い。本調査業務では残効性・浸透移行性の高い農薬（具体的にはネオニコチノイド系+フィプロニル。以下「ネオニコチノイド系農薬等」という。）の環境中への残留実態及び野生ハチ類への毒性に関する情報について把握するとともに、環境中のネオニコチノイド系農薬等及びその残留状況が野生ハチ類等の生息状況に及ぼす影響を考察することを目的とする。また、野生ハナバチ類へのリスク評価手法について整理・検討することを目的とする。

本検討会は、本事業における各種検討課題について、調査計画および成果の科学的検討を行うことを目的として、専門家の意見を伺うために開催するものである。

2. 検討会の構成

検討会は関係学識経験者からなる委員 3 名、オブザーバー及び事務局から構成される。

3. 検討事項

- ・ 既存農薬の生態影響評価データの収集および整備について
- ・ サンプルング方法や野外調査方法における留意点について
- ・ 結果およびデータ解析の取り扱いについて
- ・ 野生ハナバチにおける農薬影響評価方法について
- ・ その他

4. 事務局

国立研究開発法人国立環境研究所生物・生態系環境研究センター内に事務局を設置する。

5. その他

検討委員は、検討会において知ることのできた秘密を漏らしてはならない。その職を退いた後も、同様とする。

4-2 検討会の経緯

本年度の農薬検討会は2回実施された。

(1) 第1回検討会

日時：平成29年7月25日（13:30－17:00）

場所：国立環境研究所 RI・遺伝子工学実験棟 2階 セミナー室

議題：

- ・国立環境研究所におけるこれまでの農薬研究の歩み
- ・平成28年度調査計画報告
- ・その他

(2) 第2回検討会

日時：平成30年2月13日（13:30－17:00）

場所：国立環境研究所 RI・遺伝子工学実験棟 2階 セミナー室

議題：

- ・平成29年度調査計画報告
- ・その他

検討会の議事要旨を次ページに示す。

平成 29 年度農薬の花粉媒介昆虫に対する環境影響調査業務

第 1 回検討会 議事要旨

事務局より、国立環境研究所におけるこれまでの農薬研究の紹介、および平成 29 年度に行う農薬の花粉媒介昆虫に対する環境影響調査業務計画について提案がなされた。研究計画として、(1) 文献調査による海外事例との比較、(2) 個体レベルでの急性毒性実験、(3) コロニーレベル毒性実験、(4) EFSA の花粉中予測濃度算出プロセスの我が国における利用可能性、(5) クロマルハナバチ商品コロニーを用いた農薬残留実態調査、(6) ミツバチコロニーを用いた農薬残留実態調査、(7) 野外でのトランセクト調査による野生ハチ類生息実態調査、(8) マルハナバチ・ミツバチの周辺環境調査、(9) 研究所内でのナスとクロマルハナバチコロニー商品を使った圃場曝露実験、(10) 各実験より得られたデータを基に農薬投入量からのリスク計算方法の検討、が提案された。

検討委員とオブザーバーより、農薬の直接散布とその曝露の重要性、散布時期と作物の開花期、土壌サンプルを取る事の難しさとその意義、植物体内での農薬分布状況を把握する重要性、野生ハチ類の定義、ナス以外の作物、市販花蜜や作物の農薬分析、水域と陸域では農薬の分散過程が異なり陸域での調査の難しさなどが議論されたが、概ね事務局の計画通りに事業を進めることで合意がなされた。

平成 29 年度農薬の花粉媒介昆虫に対する環境影響調査業務
第 2 回検討会 議事要旨

事務局より、平成 29 年度に行われた花粉媒介昆虫に対する環境影響調査業務の結果について報告がなされた。

検討委員およびオブザーバーから、農薬残留分析調査で有機リン系のダイアジノンや MEP が高頻度で検出されたことについて、今後曝露経路等を慎重に特定する必要性が指摘された。また野生ハチ類への農薬影響評価方法を検討するにあたり、セイヨウミツバチのデータと比較する際の問題点が整理された。