

魚毒性の判定に必要な試験の具体的な実施方針について（案）

1. 趣旨

特定防除資材の指定にかかる評価については、「特定防除資材（特定農薬）指定のための評価に関する指針（以下「評価指針」）」に基づいて行うこととされており、水産動植物に対する安全性については、魚毒性Aに該当するか否かで評価することとしている。

今般、特定防除資材の候補資材について、魚毒性分類に基づく判定を行うに当たり必要な、試験（魚類及びミジンコ類に対する急性毒性試験。以下「魚毒性試験」という）の実施方法について、より具体化する。

2. 魚毒性の表示設定の経緯について

魚毒性表示については、昭和38年の農取法改正により水産動植物被害に係る登録保留基準が規定されたことを受け、農薬の魚毒性についての注意事項を表示する必要があることから、当時の農林省農薬検査所が中心となってコイとミジンコに対する急性毒性試験の結果から農薬をABCの3段階に分類して表示をさせることとして定めたものである（別紙1）。

コイとミジンコの具体的な毒性試験方法としては、昭和40年11月25日付け農林省農政局長通知（40農政B第2735号；以下「S40年通知」という）に定められている（別紙2）。

表1 魚毒性の分類基準

(ppm)

コイ 注1 ミジンコ (LC50) 注2	>10	0.5 < LC50 ≤ 10	≤ 0.5
>0.5	A	B	C
≤0.5	B	B	C

注1：コイに対する48時間後のLC₅₀値

注2：ミジンコ類に対する3時間後のLC₅₀値

ただし、現行GLに基づく試験法では3hr-LC₅₀の値が取れないことから、平成13年からは24hr-EC₅₀を採用している。

3：水産動植物の被害に係る登録保留基準については、魚類、甲殻類、藻類に対する毒性値と公共用水域における予測濃度を比較して評価する手法に改め、平成17年4月から施行する告示改正を行ったところであり、魚毒性の分類基準についてもこのこと等を踏まえ見直しが行われる予定

3. 現行の魚毒性の分類方法等について

現在の登録農薬の検査の際に提出が義務付けられている試験成績を作成するための試験方法は、平成12年11月24日付け農林水産省農産園芸局長通知「農薬登録申請に係る試験成績について」（12農産第8147号；以下「現行GL」という。）に定められており（別紙3）、魚類、ミジンコ類ともに農薬GLP基準に適合した試験施設で実施することとなっている。

このため、現在の登録農薬の魚毒性の分類は、現行GLに規定された「魚類急性毒性試験」及び「ミジンコ類急性遊泳阻害試験」の結果を基に判定されている。

具体的には、現行GLにより原体を被験物質として、魚類については96時間の急性毒性試験成績から得られた結果に基づく48hr-LC₅₀、ミジンコについては48時間の急性遊泳阻害試験の試験成績から得られた結果に基づく24hr-EC₅₀により分類されている。(例えば、魚類の48hrのLC₅₀が10ppmを超え、かつミジンコの24hrのEC₅₀が0.5ppmを超える場合に魚毒性Aとしている)

なお、平成17年4月より改正水産動植物に係る登録保留基準が施行され、従来コイに対する毒性のみで一律に定めていたものを、魚類、甲殻類、藻類に対する毒性試験結果に基づき環境大臣が定める基準値と公共用水域における環境中予測濃度とを比較して登録の可否を判断する手法を取り入れたものに改めたところであり、魚毒性の分類基準も見直される予定となっている。

4. 国において魚毒性判定のために必要な試験の具体的実施方法

魚毒性試験の方法等については、現行GLと40年通知では以下の相違がある。この点や特定防除資材の特性を踏まえ、特定防除資材の安全性評価を行うための魚毒性試験の具体的実施方法については、以下の方針で行うこととする。

表2 魚類に対する急性毒性試験の比較

	S40年通知	現行GL
曝露期間	48時間 (できる限り24, 72時間におけるものを併記する)	96時間 (24, 48, 72, 96時間の一般状態を観察し記録する)
供試生物	原則としてコイ(全長5cm前後) 非水田農薬はヒメダカ、モツコ等でも可	原体はコイ又はヒメダカ ブルギル、グッピー、ゴジマス等でも可
試験条件 供試魚数 試験濃度区 試験薬液量 その他	各濃度毎に10匹以上 -特に規定無し- 魚の体重1gにつき1L以上 特になし	各濃度区毎に7匹以上 等比級数的に5濃度区以上 同左 ・曝露期間中の被験物質濃度は設定濃度の80%以上が望ましい ・試験液のPH調整は行わない
結果の処理法	ダートロフの方法により半数致死濃度を求める。(片対数グラフの対数目盛りに供試薬液の濃度を取り、普通目盛りには生存率を取り、測定された生存率が50%より上の点と下の点で最も50%に近いものを選び、この両者を直線で結び50%の線と交わる点の濃度を半数致死濃度とする)	各濃度における死亡率の結果から一般的に用いられる手法を用いて半数致死濃度を算出する。(報告事項は半数致死濃度と95%信頼限界)

表3 ミジンコに対する急性毒性試験の比較。

	S40年通知	現行GL
試験期間	3時間	48時間(24, 48時間目の遊泳阻害の有無について観察し記録する)
供試生物	ミジンコ又はマミジンコの雌成体	ミジンコの幼体(当該種と同等の試験結果が得られるミジンコ類であれば他の種を用いても良い)
試験条件 供試生物数 試験濃度区 試験薬液量 その他	各濃度毎に約20匹 コイの毒性試験に準じる 100ml 特になし	各濃度区毎に20匹以上 等比級数的に5濃度区以上 ミジンコ1頭当たり5ml以上 ・曝露期間中の被験物質濃度は設定濃度の80%以上が望ましい ・試験液のPH調整は行わない
結果の処理法	コイに準じる。	魚類に準じる

(1) 被験物質について

登録農薬のほとんどは有効成分が明らかであるため、製剤が有効成分そのものと考えられる一部のもの(有効成分が明らかでない一部のもの)を除き有効成分ベースでLC₅₀値等を算出している。しかし、特定防除資材の候補資材については、〇〇抽出液であるとか、木酢液等であったりすることから有効成分が何であるのか不明である場合が多いと想定されることから、有効成分ベースでの魚毒性試験の実施が困難である。

このため、製剤ベース(〇〇抽出液そのものを原体と見なす)で魚毒性の試験を実施することとする。

(2) 魚毒性試験の方法について

評価指針では、昭和40年代に定めた魚毒性の分類基準が現行でも有効であることから、コイを用いた48時間のLC₅₀と、ミジンコを用いた3時間のLC₅₀により魚毒性を判定することとしている。しかし、現行GLでは、魚類に対する96時間の急性毒性試験とミジンコ類の48時間急性遊泳阻害試験が位置づけられている。

このため、特定防除資材候補資材の評価に当たり実施する魚毒性試験は、現行GLに従って魚類急性毒性試験(96時間)及びミジンコ類の急性遊泳阻害試験(48時間)を実施することとする。なお、魚毒性の判定については、評価指針に従って行うこととなるため、当該試験を実施する中で魚類については48時間時点のLC₅₀を、ミジンコについては3時間後のEC₅₀を用いて行うこととする。(なお、水産動植物に

係る登録保留基準の改正等も踏まえ魚毒性の分類基準が見直されたときには、特定防除資材の安全性評価に用いる魚毒性の判断基準もこれに準拠することとする。）

(3) 供試魚種について

魚類急性毒性試験の供試魚種については、

- ・改正水産動植物に対する毒性に係る登録保留基準でコイ、ヒメダカを同等に扱っていること
- ・農水省のテストガイドラインにおける原体による急性毒性試験でも両者を同等に扱うこととして見直されていること。

から、試験に要する経費、時間等の面で効率的なヒメダカを供試魚種として用いることとする。

農薬の魚毒性表示について

農林省農薬検査所 吉田孝二・橋本 康・西内原浩

農薬取締法第2条2項には農薬の登録申請の際、申請書に記載すべき事項が列記してあるが、その6番目に「水産動植物に有害な農薬については、その旨」という事項がある。これは昭和38年の法律改正に伴って新しく追加されたもので、農薬が広く普及された結果、時に起こる農薬の水産生物に対する不測の事故をできるだけ防ぐことを目的とするものであった。またこのような事故の原因は農薬使用者の不注意な使い方によることが多く、また農薬のいわゆる魚毒性についての知識が不十分であることも手伝っていると考えられた。そして取締法第7条に基づいて「製造業者又は輸入業者はその製造し、若しくは加工し、又は輸入した農薬を販売するときはその容器(容器に入れないで販売する場合にあってはその包装)に上記事項の真実の表示をしなければならない」とことになっており、魚毒性についての注意事項も表示をすることが要求された。しかし、最近まではこの指導が徹底せず魚毒性の強弱を決定する技術的方法にも不備な点があったので、甲筋等あるいは容器(包装)に、適正な記載、表示がなされていた、とは必ずしもいいがたい状態であった。一方、この間にも有明海で魚貝類の大量死事故があり、この原因の一つに農薬があげられた。農薬によるものかどうかは別として、この事故に関連して農薬の魚毒性に関する適正な記載表示をすべきであるという問題があらためて大きく取り上げられ、個々の農薬についてその魚毒性を再検討する必要が生じた。そこで農林省は農薬検査所を中心としてこれまでの文献の調査を行なうとともに昭和41年に各農薬会社の協力を得て運送試験を行ない大部分の農薬成分について魚毒性の強弱を明らかにすることができた。これらの結果から各農薬成分は毒性に応じて、別表のようにA、B、Cの3段階に分けられ、申請書および容器(包装)にはそれぞれ定められた記載、表示をすることに定められた。なおこの問題の経緯、運送試験の打ち合わせおよび結果の検討、記載、表示する文章、実施要領については農林省は常に業界との連絡をとり安全使用のための円滑な運用をはかった。

A、B、C分類の基準は次のとおりである。すなわち

A類：コイに対する48時間後のTL₅₀(半数致死濃度)が10ppm以上で、ミジンコおよびタマミジンコに対する3時間後のTL₅₀が0.5ppm以上であるもの。

B類：コイに対する48時間後のTL₅₀が0.5~10

ppmの範囲であるか、コイに対する48時間後のTL₅₀が10ppm以上であっても、ミジンコおよびタマミジンコに対するTL₅₀が0.5ppm以下であるもの。

C類：コイに対する48時間後のTL₅₀が0.5ppm以下であるもの。その他、PCP(除草剤)やドリソリン(殺菌剤)のようにこれまでもすでに指定農薬、規制農薬の使用規制を受けているものは従来どおりの記載や表示をし、また規制を受けるのであって今回の分類とは直接関係はない。なお、分類の基礎となっているコイに対するTL₅₀値は原則として昭和40年11月25日付け40年農政B第2735号によって通達された「魚類に対する農薬の毒性検定のための標準法」によった。ミジンコおよびタマミジンコについては、魚類とともに水産有用生物の一つである甲殻類の薬剤感受性を代表するものとして、供試生物に定め下記要領により試験を行なった。

〔供試生物〕 ミジンコ *Daphnia pulex* およびタマミジンコ *Moina macrocarpa* は屋外コンクリート水槽で繁殖させたもので成体のみを用いた。

〔試験条件〕 腰筒シャーレ(内径9cm、深さ7cm)に供試薬液を100ml入れる。薬液は農薬を純水に溶解させたものである。試験は実験室内で行ない水温は24~26°Cであった。1区に放したミジンコあるいはタマミジンコは20~30尾である。

〔試験方法〕 コイに対する試験に準じて薬液の濃度段階をとり、放飼3時間後のTL₅₀をみた。生死の判定は触角の運動が停止しているものを死とする基準によった。最初死数を観察してから、供試生物を全部殺し全数を調べ死亡率を求めた。TL₅₀の計算はコイの場合と同じくDoudoroffの作図法によった。

以上の試験結果を中心にして農薬成分の魚毒性の分類を行なったが、各農薬はその分類に従って申請書には次のような記載をすることとした。

A類：通常の使用方法ではその該当がない。

B類：通常の使用方法では影響は少ないが、一時に広範囲に使用する場合は十分注意する。

C類：懸濁があるので使用にあたっては薬剤が(河川などに)飛散、流入しないよう十分に注意する。

この文章は申請書の「水産動植物に有害な農薬については、その旨」という項目を受けたものであり、製品の容器(包装)表示にはこの趣旨を十分伝えるような文章の

の天または上段に貼布する。

(10) その他疑問の点は農薬検査所に照会すること。

この要領は 41 年 10 月 27 日現在のもので、4 項はすでに述べてあり、5 項における検討は大部分解決されている。以上のような経過で魚毒性の表示は 42 農薬年度から実施されることになったが、今後早急に解決しなければならないいくつかの問題点を残している。第一に水産動植物に対する毒性という法律上の項目に対して、この分類は魚類コイと甲殻類ミジンコ、クマミジンコに対する毒性を基礎としており、貝類など他の水産動物や植物に対する毒性は考慮されていないし、甲殻類に対する毒性がいかに強くともそれだけでは G 類にしていけない。ミジンコ、クマミジンコをもって甲殻類の薬剤感受性を代表させたこと自体問題がある。甲殻類、貝類、水産植物などに対する毒性の試験方法について、水産関係者の協力を得て将来標準法をつくり、各農薬の毒性の正確な知識を得ることがぜひ必要であると思われる。またこの分類は各農薬成分そのものの毒性を基準に行なったものであり、製剤の毒性がいちじるしく原体に比べて強いものには安全性の面から製剤の値きとったことを除いては製剤型、一定面積当たりの使用量、使用場所などの環境条件などはまったく考慮していない。したがって各

製剤の実際の使用面における毒性の現われ方とは必ずしも一致していない。今後十分検討すべき問題である。混合剤についても、構成している成分のうち魚毒性の最も強い成分の分類に従うこととしたが混合の仕方によっては協力作用も考えられる。

また、くん蒸剤、植物成長調整剤、殺そ剤、展着剤についてはさしあたり A 類としたが、これも問題があるので、今後試験を行ない毒性の強いものは相当するランクに移すことになっている。なお、別表の分類表中に * 印をつけた農薬については本年再検討を予定しているので年内には最終決定をみるはずである。

いずれにしても、この分類方法には今後解決すべき問題が多いが、この件については年 1 回以上関係者が集まり、この分類を基礎として訂正、改正をはかることが取り決められている。

このように将来における改善を前提とした不完全な形でありながら、魚毒性表示を急いだのに決して農薬の使用をこれにより規制したり、制限しようとするためではなく、この表示をよく読み、注意事項をよく守れば農薬による不祥事故は少なくなり、農薬の安全使用に寄与する点が多いという趣旨からである。各位のご協力をお願いする次第である。

表示をすることとした。ただしA類に属する製品についての表示をする、しないは任意とした。なお、表示の具体的な実施については農林省は実施を早急にするという立場から業界に連絡し、暫定措置を認めて、次の要領で行なうことになった。

(1) ラベル表示は原則として41年10月より実施する。ただし本年10月以前の製品で流通段階にあるものおよび工場在庫品の措置は従来どおりとするが、別途の方法で本施行の徹底をはかること。

(2) 本年10月以降新たにラベルを作成するときは所定の表示を行なうこと。

(3) 手持ラベルの有効利用と準備不足を補うために暫定措置として包装ケースごとに個数に該当する枚数だけ表示事項記載の印刷物を挿入するなど周知徹底をはかる暫定措置をとること(たとえば、粉剤B袋入りのケースにはB枚入れる)。ただし、この暫定期間は42年9月までであって42年10月よりはすべて各製品ごと所定

のラベル表示をすること。

(4) PCP およびドリ剤については上記A、B、C類の分類外であり、すでに規定されている従来どおりの表示をすること。

(5) 現在、農薬検査所を中心とした魚毒性に関する連絡試験でとりあげられ、11月初旬開催予定の技術懇談会で検討の上決定されることになっているものについても、それまでは一応別表の分類によって措置すること。ただしその分類に変更があると思われるものについては、農薬検査所と協議の上措置すること。

(6) 別表に記載のない最近登録になった薬剤などは登録申請書に記載してあるように表示する。

(7) バルク輸送のもので、末端利用でないことが確実なものについては、42年9月までは従来どおりとする。

(8) 原体で農薬登録の対象にならないものは表示しなくてもよろしい。

(9) 20L または 20kg など大型容器については所

別表 各農薬成分の魚毒性の強弱による分類

A類	殺虫剤	ヒ酸鉛、ヒ酸石灰、除虫菊、硫酸ニコチン、硫酸アナバジン、オパコ粉、松脂合剤、MNFAマシン油、DN、クロルベンジレート、クロルプロピレート、ジフェニルスルホン、ジフェニルスルフィド、キノキサリン系、アゾキシベンゼン、D-D、EDB、CDBE、DCIP、DBCF、メタアルデヒド、酸化第二鉄、パミドチオン、ESP、モノフルオル酢酸アミド、FABA、ケイフ化亜鉛、DDDS*、CPA5*、トキナモート*
	殺菌剤	硫酸、石灰硫黄合剤、カスガマイシン、硫酸オキシキノリン、有機ヒ素、ストレプトマイシン、フェナジン、有機ニッケル、チアジアジン*、PCBA*
	除草剤	DCBN、2,4-PAソーダ塩、2,4-PAアミン塩、ATA、CMU、DPA、シアノ酸塩、スルファミン酸塩、MDBA、GNP、アマトリン、アトラジン、プロパジン、ジフェナミド、DBN、MCソーダ塩、MCPアミン塩、CAT、リニルロン、クロロIPC、DCPA、TCA、塩素酸塩、パラコート、レナシル、プロマシル、トリエタジン*、プロメトリン*、MCC*、SAP*、DSP*、COMU*、BIGP
B類	殺虫剤	TEPP、エチルパラチオン、メチルパラチオン、EPHP、マラソン、ジメトエート、エチルチオメトン、チオメトン、IPSP、DDVP、メカルバム、PAP、DEP、MPP、MEP、ダイアジノン、メチルジメトン、ホルモチオン、マイトメート、エチオン、メナゾン、ECP、PMP、BRP、DAEP、TCP、BAB、NAC、PHG、CPMC、REE、BCPE、カーボノレート、AFC、CYAP、CYA、ジオキサリン系有機リン、GPCB5、CMP、ホサロン、DDT*、BHC*、EPN*、ケルセン*、DCPN*
	殺菌剤	硫酸亜鉛、銅、有機銅、ジネブ、マンホブ、アンバム、メチラム、有機硫黄、テウラム、カルバジン酸系、DPC、キノキサリン系、NBT、PCND、DAPA、CNA、フンスタキノン系、シクロヘキシミド、グリセオフルビン、ブラストサイジン-S、セロサイジン、NCS、ポリカーバメイト、サルチルアエリド、EBP、PCM、NCPA、ジクロン*、フェーバム*、ジラム*、ETM*、TPN*、キャプタン*、ニトロステレン*、トリアジン*、ダイホルタン*、硫酸銅*
	除草剤	2,4,5-T、MCP、エチルエステル、2,4PAエチルエステル、DCMU、CBN、ジクワット、トリフルアリン、キサントゲン酸塩、MCPP、MCPCA*、MCPFB*、NIP*
C類	殺虫剤	アルドリノ、ヘプタクロル、クロルゲン、ゲリス、DNOC、DNBP、ベンゾニピン
	殺菌剤	有機水銀、有機スズ、ジメチルアンバム、PCP(クロン)、PCP-Ba塩、NBA
	除草剤	DNBP、DNOC、DNBPA、有機スズ
指定	規制農薬	殺虫剤 エンドリン、ディルドリン、テロドリノ 除草剤 PCP

*印は本年再検討を予定されているもの。

18. 魚類に対する毒性試験法

〔試験法〕

魚類に対する急性毒性試験法としては T L m (median tolerance limit) 値を求める試験法で行う。T L m 値は 48 時間におけるものを使用し、できる限り 24 時間、72 時間におけるものを併記する。

(1) 装置および器具

試験容器は容量が 10 ℓ 以上のガラス水槽を用い、方形のものでは 3 辺の比が、円筒形のものでは直径と高さの比が大きくないものが望ましい。同時に行う試験には同一種類の容器を用いなければならない。

(2) 供試生物

供試生物は原則として全長 5 cm 前後のコイとする。ただしその農薬が水田に使用されないものであればヒメダカ、モツコなどを用いてもよいが、この場合はその毒性が他の農薬の毒性と容易に比較できるような参考資料を併記しなければならない。供試魚は試験条件になじませるため入手後供試までに最低 1 週間の期間を置く。この期間中は 1 日 1 回給餌し、試験前 48 時間は餌止めをする。

試験に際しては供試魚の大きさをできるだけそろえ、同一試験に供試する魚は同一条件で入手したものとする。この試験には病気または外見や行動に異状のある魚は使わないようにする。

(3) 試験条件および操作

試験の際の水温は 20 ~ 28 °C とし試験中の水温変化は ± 2 °C 以内にとどめるようにする。供試薬液の各濃度について同時に試験する固体数は少なくとも 10 尾とする。供試薬液の量は供試魚の体重 1 g について 1 ℓ 以上とする。必ず希釈に用いた水のみを対照区を設け、この区において 10 % 以上の死亡率があった場合はこの試験結果は使用しない。

(4) 試験結果の取り扱い

試験結果から T L m 値を求めるにはダートドロフの方法による。すなわち、片対数グラフの対数目盛に供試薬液の濃度を取り、普通目盛には生存率を取り、測定された生存率が 50 % より上の点と下の点で最も 50 % に近いものを選ぶ。この両点を直線で結び 50 % の線と交わる点の濃度を T L m 値とする。

(5) 供試薬剤の取り扱い

ある農薬の試験はその製剤とともに原体について行うことが望ましい。水に親和しない原体はできる限り少量の適当な溶剤を加えて懸濁するようにする。なお、溶剤を使用した場合は溶剤のみの対照区をつくらなければならない。粉剤、水和剤はできるだけ毒性を把握するようにするが、この場合溶剤などは加えない。必要に応じて魚を入れる直前および24時間後に供試薬液を攪拌する。

[ミジンコ類の試験法(暫定)]

(1) 供試生物

ミジンコまたはタヨミジンコの雌成体

(2) 試験条件

腰高シャーレに供試薬液を100ml入れる。薬液は農薬を井水に溶解させたものである。
一区に放すミジンコは約20尾とする。

(3) 試験方法

コイに対する毒性試験に準じて薬液の濃度段階をとり、3時間後のTLm値を測定する。生死の判定は触角の運動が停止しているものを「死」とする基準による。