

(別紙1 続き)

○毒性試験期間 = 2日間の場合

ケース1 (散布直後に伴う予測)

$$PEC_{Tier2} = \frac{\sum m_{out,i} + \sum m_{seepage,i} + M_{Dr} + M_{Dd} - M_{se}}{3 \times 86400 \times T_e}$$

$$\sum m_{out,i} = (C_3 + C_3 + C_4) \div 5 \times Q_{out} \times A_p \times f_p$$

$$\sum m_{seepage,i} = (C_0 + C_1 + C_2 + C_3 + C_0 + C_1 + C_2 + C_3 + C_4) \div 5 \times Q_{seepage} \times A_p \times f_p / K_{levee}$$

$$M_{Dr} = I \times \frac{D_{river}}{100} \times Z_{river} \times 2$$

$$M_{Dd} = I \times \frac{D_{ditch}}{100} \times Z_{ditch} \times 2$$

ケース2 (止水終了後に伴う予測)

$$PEC_{Tier2} = \frac{\sum m_{out,i} + \sum m_{seepage,i} - M_{se}}{3 \times 86400 \times T_e}$$

$$\sum m_{out,i} = (C_3 + C_4 + C_5 + C_6 + C_7 + C_4 + C_5 + C_6 + C_7 + C_8) \div 5 \times Q_{out} \times A_p \times f_p$$

$$\sum m_{seepage,i} = (C_3 + C_4 + C_5 + C_6 + C_7 + C_4 + C_5 + C_6 + C_7 + C_8) \div 5 \times Q_{seepage} \times A_p \times f_p / K_{levee}$$

急性影響濃度に基づく登録保留基準値の考え方

1 試験生物

試験種は、水域生態系における生産者を代表する藻類、一次消費者を代表する甲殻類及び二次消費者を代表する魚類の3生物群において、これら生物を代替するあるいはこれら生物群の代表的な種類の中から選択する。具体的には以下のとおりとする。

- ①魚類：メダカ (*Oryzias latipes*) 又はコイ (*Cyprinus carpio*)
- ②甲殻類：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- ③藻類：緑藻 (*Selenastrum capricornutum*)

この他、環境省、農林水産省で試験法の定められている試験生物の中から、上記より感受性の高い試験生物を選択することができる。

2 試験方法

毒性評価を行うために用いる試験方法（テストガイドライン）については、環境省の協力の下に農林水産省が作成した「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）とする。この試験方法は、化学物質に関するOECDテストガイドラインに準拠したものである。

3 急性影響濃度の導出方法

(1) 急性影響濃度の導出に用いるエンドポイント

一般に急性毒性でのエンドポイントは、半数の生物に影響がある濃度が用いられており、魚類急性毒性試験では「 LC_{50} 」、甲殻類急性遊泳阻害試験、藻類生長阻害試験では「 EC_{50} 」で表されている。

現行の農薬取締法第3条第1項第6号に基づく登録保留要件は、「水産動植物の被害が発生し、かつ、その被害が著しいものとなるおそれがある」場合とされていること、諸外国における急性毒性のエンドポイントの状況、さらに登録保留基準という法律に基づく規制に根拠となるデータの信頼性を確保する必要があることを考慮し、エンドポイントとしては、魚類では「 LC_{50} 」、甲殻類・藻類では遊泳阻害・生長阻害に関する「 EC_{50} 」とする。

(2) 不確実係数の適用

毒性試験に用いる生物は、水産動植物とその餌生物の位置付けの中で必ずしも感受性の最も高い種類と断定できないこと、農薬が散布される時期は繁殖期、孵化期、幼稚仔の生育期にあたる生物が多いことなどから、毒性評価から急性影響濃度を導出する際、不確実係数を適

用し、種類差を考慮する。

①魚類における不確実係数

魚類の種類間での感受性の差は、試験種として用いるメダカとニジマス、コイ、フナなど他の種類では概ね 10 倍以内と考えられることから、魚類の種間差を考慮した不確実係数は「10」を採用する。

なお、感受性の高い魚類を試験種として用いた場合、剤の特性として種差が少ないことが証明される場合には、科学的に妥当な範囲で 1 ~ 10 の不確実係数を適用することができる。

②甲殻類に対する不確実係数

甲殻類での種類間での感受性の差は、試験種として挙げているオオミジンコと我が国に生息している甲殻類・エビ類では概ね 10 倍以内と考えられることから、甲殻類の種間差を考慮した不確実係数は「10」とする。なお、剤の特性として感受性の高い種とオオミジンコとの間で感受性に関して明確な種差が認められないことが証明される場合には、種間差の不確実係数を科学的に妥当な範囲で 1 ~ 10 の不確実係数を適用できる。

③藻類に対する不確実係数

藻類に関する感受性の差は、既往の知見から 1 ~ 1000 倍程度と幅の広いことが考えられるが、当該試験に用いられる緑藻 (*Selenastrum capricornutum*) は感受性が高い種として知られているため、当面、不確実係数は「1」とする。

(3) 登録保留基準値（案）の決定

急性影響濃度は、これらの魚類、甲殻類、藻類の急性毒性値に種類差を考慮した、すなわち、不確実係数で除した値の中で、最も低い値とし、これを当該農薬の登録保留基準値（案）とする。

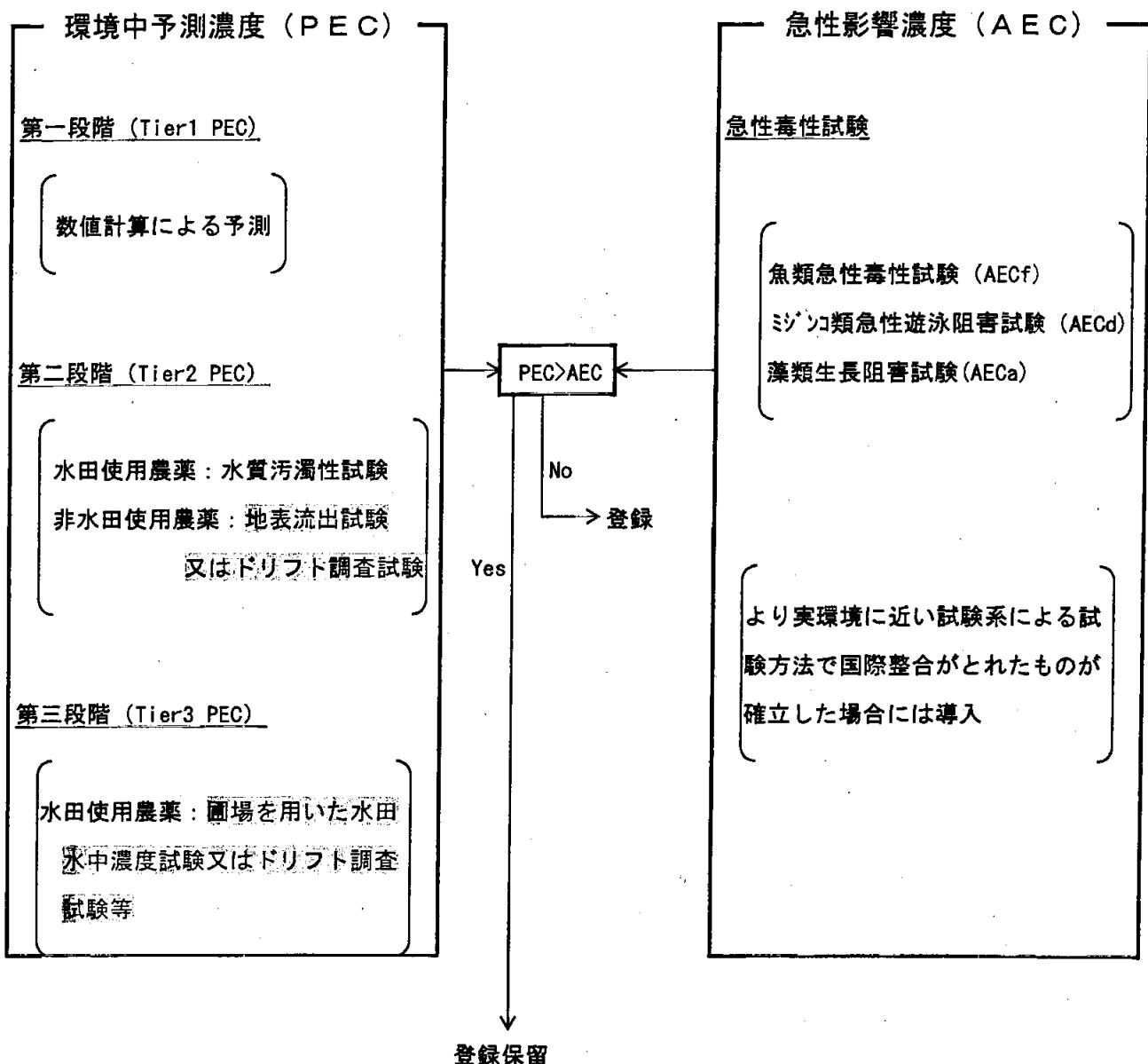
(4) 科学的知見の反映

以上の登録保留基準値（案）は、専門家による検討、中央環境審議会土壌農薬部会への諮問・答申を経て決定される。

4 その他

生態影響を考慮した登録保留基準値の設定は、現時点における知見にかんがみ、当面、以上の試験結果に基づいて行うこととするが、これらの試験方法よりもより実環境に近い試験系による試験方法（マイクロコズム試験等）の開発が進められていることから、当該試験方法についても早急に検討を行い、国際的に整合がとれたものが確立した場合には導入することが適当である。

評価スキーム体系図



※魚類急性毒性試験

$$96\text{hr}-\text{LC}_{50} \times 1/10 (1 \sim 1/10) = \text{AECf}$$

$$\text{ミジンコ類急性遊泳阻害試験 } 48\text{hr}-\text{EC}_{50} \times 1/10 (1 \sim 1/10) = \text{AECd}$$

藻類生長阻害試験

$$72\text{hr}-\text{EC}_{50} \times 1 = \text{AECA}$$

※網掛け部分は、今後試験方法等を作成

※既登録農薬については、PECに代えて環境モニタリング調査の結果も活用可。

参考資料一覧

参考資料 1 環境基本計画（平成 12 年 12 月 22 日閣議決定）-----	1
参考資料 2 水質汚濁性農薬及び農薬安全使用基準-----	2
参考資料 3 現行の魚毒性に基づく分類とラベル表示----- （使用上の注意事項）	5
参考資料 4 生態影響野外試験調査結果の概要-----	6
参考資料 5 欧米主要国の生態影響評価-----	11
参考資料 6 水産動植物への影響に関する試験ガイドライン-----	13

環境基本計画（平成12年12月22日閣議決定） (関連部分抜粋)

第2部 21世紀初頭における環境政策の展開の方向

第2節 持続可能な社会の構想に向けた環境政策

1 基本的な考え方

(2) 生態系の価値を踏まえた環境政策

すべての社会経済活動は、人類の存続の基盤となっている生態系のもたらす様々な恵みなしには成り立ちません。自然資源を利用する社会経済活動は、人間がその構成要素となっている生態系が複雑で絶えず変化し続けているものであること及び生態系が健全な状態で存在していることそれ自体に価値があることを十分に認識し、このことを前提として行わなければなりません。また、それらの活動は、生態系の構造と機能を維持できるような範囲内で、また、その価値を将来にわたって減ずることのないように行われる必要があります。

第3部 各種環境保全施策の具体的な展開

第1章 戰略的プログラムの展開

第5節 化学物質対策の推進

1 現状と課題

(5) 化学物質と生態系の関係については、既に諸外国の化学物質関連法制度において人の健康に加えて環境の保護が目的とされ、また、化学物質の野生生物への内分泌かく乱作用の疑いが見られる影響が注目されるなど、人の健康だけでなく、生態系への化学物質の影響（生態系を構成する生物に対する影響を含む。）の重要性が認識されつつあります。このため、農薬を含めた様々な化学物質による生態系に対する影響の適切な評価と管理を視野に入れて化学物質対策を推進することが必要です。

水質汚濁性農薬

【農薬取締法の規定】

(水質汚濁性農薬の使用の規制)

- 第12条の4 政府は、政令をもつて、次の各号の要件のすべてを備える種類の農薬を水質汚濁性農薬として指定する。
- 一 当該種類の農薬が相当広範な地域においてまとまって使用されているか、又は当該種類の農薬の普及の状況からみて近くその状態に達する見込みが確実であること。
 - 二 当該種類の農薬が相当広範な地域においてまとまって使用されるときは、一定の気象条件、地理的条件その他の自然的条件のもとでは、その使用に伴うと認められる水産動植物の被害が発生し、かつ、その被害が著しいものとなるおそれがあるか、又はその使用に伴うと認められる公共用水域の水質の汚濁が生じ、かつ、その汚濁に係る水の利用が原因となつて人畜に被害を生ずるおそれがあるかのいずれかであること。
 - 2 都道府県知事は、水質汚濁性農薬に該当する農薬につき、当該都道府県の区域内における当該農薬の使用の見込み、その区域における自然的条件その他の条件を勘案して、その区域内におけるその使用に伴うと認められる水産動植物の被害が発生し、かつ、その被害が著しいものとなるおそれがあるか、又はその区域内におけるその使用に伴うと認められる公共用水域の水質の汚濁が生じ、かつ、その汚濁に係る水の利用が原因となつて人畜に被害を生ずるおそれがあるときは、政令で定めるところにより、これらの事態の発生を防止するため必要な範囲内において、規則をもつて、地域を限り、当該農薬の使用につきあらかじめ都道府県知事の許可を受けるべき旨（国の機関が行なう当該農薬の使用については、あらかじめ都道府県知事に協議すべき旨）を定めることができる。

【政令により指定されている水質汚濁性農薬】

- 1 オクタクロルテトラヒドロメタノフタラン（別名テロドリン）を有効成分とする害虫の防除に用いられる薬剤
 - 2 ヘキサクロルエポキシオクタヒドロエンドエンドジメタノナフタリン（別名エンドリン）を有効成分とする害虫の防除に用いられる薬剤
 - 3 ヘキサクロルヘキサヒドロメタノベンゾジオキサチエピンオキサイド（別名ベンゾエピン）を有効成分とする害虫の防除に用いられる薬剤
 - 4 ペンタクロルフェノール（別名P C P）又はそのナトリウム塩若しくはカルシウム塩を有効成分とする除草に用いられる薬剤
 - 5 ロテノンを有効成分とする害虫の防除に用いられる薬剤
 - 6 2-クロロー-4・6ビス（エチルアミノ）-s-トリアジン（別名シマジン）を有効成分とする除草に用いられる薬剤」
- (注) 以上のうち1から5までが水産動植物の被害の観点から指定された薬剤

農薬安全使用基準

【農薬取締法の規定】

(農薬安全使用基準)

第12条の6 農林水産大臣は、農薬の安全かつ適正な使用を確保するため必要があると認めるときは、農薬の種類ごとに、その使用の時期及び方法その他の事項について農薬を使用する者が遵守することが望ましい基準を定め、これを公表するものとする。

【水産動物の被害の防止に関する安全使用基準】(農林水産省公表)

別表二に掲げる物質を有効成分とする農薬を使用する場合の使用の場所及び方法に関する基準は、次のとおりとする。

- ア 散布された薬剤が、河川、湖沼、海域及び養殖池（以下「河川等」という。）に飛散又は流入するおそれのある場所では、使用しないこと。また、別表二の一に掲げる農薬については、これらの場所以外でも、一時に広範囲には使用しないこと。
- イ 使用残りの薬液が生じないように調製を行うとともに、散布に使用した器具及び容器を洗浄した水は、河川等に流さず、散布むらの調整等に使用し、また、空容器、空袋等は、廃棄物処理業者への処理の委託等により水産動物に影響を与えないよう安全に処理すること。

別表2

1 水質汚濁性農薬

- 殺虫剤等に使用される物質
(1) ベンゾエピン
(2) デリス (ロテノン)

2 水質汚濁性農薬以外の農薬

- 殺虫剤等に使用される物質
(1) C V P
(2) B P P S
(3) クロルピリホス ただし、くん煙剤は除く。
(4) クロルピクリン
(5) 酸化フェンブタスズ
(6) シハロトリル ただし、エアゾルを除く。
(7) シフルトリル
(8) シペルメトリル
(9) トラロメトリル
(10) ビフェントリル
(11) ピラクロホス
(12) ピリダベン
(13) フェノチオカルブ
(14) フエンバレレート
(15) フエンピロキシメート
(16) フエンプロパトリン ただし、くん煙剤は除く。

- (17) フルシリネート
- (18) フルバリネート ただし、くん煙剤は除く。
- (19) プロフェノホス
- (20) ペルメトリン ただし、エアゾル及びマイクロカプセル剤は除く。
- (21) ミルベメクチン
- (22) テフルトリシン
- (23) テブフェンピラド
- (24) ハルフェンプロックス
- (25) アクリナトリン
- (26) エスフェンバレレート
- (27) ピリミジフェン
- (28) フラチオカルブ
- (29) クロルフェナピル
- (30) フィプロニル
- (31) ジアフェンチウロン
- (32) エマメクチン安息香酸塩
- (33) カズサホス
- (34) フルアクリピリム

殺菌剤等に使用される物質

- (1) トリアジン ただし、くん煙剤は除く。
- (2) D P C ただし、エアゾルは除く。
- (3) ジラム
- (4) T P N ただし、エアゾル及びくん煙剤は除く。
- (5) キャプタン ただし、エアゾルは除く。
- (6) 硫酸銅
- (7) スルフェン酸系又はジクロフルアニド ただし、くん煙剤は除く。
- (8) チウラム ただし、塗布剤は除く。
- (9) フルアジナム
- (10) ベンチアゾール
- (11) 有機銅 ただし、塗布剤は除く。
- (12) フルスルファミド
- (13) ジフルメトリム
- (14) ファモキサドン
- (15) トリフロキシストロビン

除草剤等に使用される物質

- (1) アイオキシニル

現行の魚毒性に基づく分類とラベル表示（使用上の注意事項）

農薬取締法に基づく登録検査の結果、水産動植物に有毒であるとされたものはその旨を記載し、被害防止上の注意を付記することになっている。その際、コイとミジンコ類のLC50値を用いて、以下のとおり分類されており、その区分ごとに農薬個々の使用場面、剤の特性、危険度等をも踏まえ必要な注意事項を製品のラベルに記載することになっている。

1 魚毒性の分類基準

(ppm)			
ミジンコ ^{注1} (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

2：ミジンコ類に対する3時間後のLC50値

備考1：B類に属する農薬のうち、水田に適用、または航空防除に供されるもので、次の3つの要件のうちいずれかに該当するものはBs類に分類される。
 (a) コイに対する48時間後のLC50値が2ppm以下のもの。
 (b) コイを除く魚種(トド、マス等)に対する48時間後のLC50値が0.5ppm以下のもの。
 (c) ヒメダカに対して0.5ppm以下の濃度で背曲がり、平衡失調等の特異な影響を与えるもの。

2：C類：水田使用不可(但し育苗箱施用を除く)。

2 魚毒性の分類ごとにラベルに表示される使用上の注意事項の例

分類	使用上の注意事項（例）
A類	・「通常の使用方法では問題がない」
B類	・「魚介類に影響を及ぼすが、通常の使用方法では問題がない」 (畑地一般散布剤、展着剤) ・「魚介類に影響を及ぼすので養魚田での使用は避けること」 (水田散布剤)
Bs類	・「魚介類に対する比較的強い影響を及ぼすので、養魚田及び養魚池などの周辺での使用は避けること」 (1の備考1の(a)の場合) ・「〇〇には特に影響を及ぼすので、養魚池などの周辺での使用は避けること」(1の備考1の(b)の場合) ・「比較的低濃度でも魚が平衡失調などを起こすので、養魚池などの周辺での使用は避けること」(1の備考1の(c)の場合)
C類	・「魚介類に強い影響を及ぼすので河川、湖沼、海域及び養魚田などに本剤が飛散、流入するおそれのある場所では使用しないこと」(畑地一般散布剤) ・「魚介類に強い影響を及ぼすので施設内で使用する場合は、その場所に魚介類を飼っている水槽を置かないこと」 (くん煙、フローダスト剤等)

表 1a 生態影響野外調査結果の概要

調査名 種類	調査の目的・概要	対象 農業	水生生物 毒性値 ($\mu\text{g/L}$)	調査時 最高濃度 ($\mu\text{g/L}$)	急性最小毒 性値<実測濃 度	水生生物濃度 (ppb)	水生生物への影響評価状況及び問題	
							変動等による影響と断定できなかつた。 ・水中プランクトン及び付着藻類については影響による獨特により調 査できなかつた。	
農業生態影響野外調査 1 (平成 13 年度) ○調査対象生物種数 プランクトン 及び付着藻類 珪藻類 26 種・属 裸藻類 10 種・属 藍藻類 4 種・属 動物性プランクトン類 魚類 7 種・属 底生生物等 水生昆虫類等 136 種・属 最大出現数 14 種 魚介類等 魚類 12 種 介類 4 種属	他地盤から流入する農業の影響 がほとんどない と考へられた水 田地盤を調査地 区(水田約 300ha) とし、実際の野外 における農業の 流出状況と多くの 水生生物への 影響状況を概ね 4 月～10 月の間 2 年にわたり調 査。	テルクロール (草) 5月初旬～ 下旬	藻急(EC50) 12.9 甲急(EC50) 1,450 魚急(LC50) 1,720	散布区域内河川 7.1 大河川下流 0.1	無 無	魚類 310 底生生物 420 付着藻類 300	・水生昆虫は散布前と比べ種数及び個体数が減少した。生活史による 変動等も考えられ農業による影響と断定できなかつた。 ・水中プランクトン及び付着藻類については影響による獨特により調 査できなかつた。	一般河川中での モニタリング・最大濃 度 0.11ppb 加水・攪拌
	※平成 12 年度も 航空防除実施 日前後を中心 に調査を実施した が、調査自体が試 行錯誤の中で初 めて行われたこ と、 航空防除当日(8 月 4 日)に局地的 な集中豪雨が見 られたこと等か ら農業の影響を 把握することが 困難であったた め、平成 12 年度 の結果について は記述していな い。	シリカ・スルファン (虫) 5月中旬～ 下旬	代謝物質アラジ 藻急(EC50) 10,100 甲急(EC50) 20.1 魚急(LC50) 933 けじまけ・危(LC50) 26.7	散布区域内河川 1.4 大河川下流 0.2 ※上流域でも 0.2 の 検出有り	無 無	底生生物 700 付着藻類 600	・水生昆虫については明らかに影響は見られなかつた。 ・6/5 以降の水中プランクトンは珪藻類・藍藻類が優先していた。 ・6/5 以降の付着藻類については概ね珪藻類が優先し、藍藻類も見られ た。 ・散布後のプランクトン及び付着藻類についての影響は明らかでなか つた。	一般河川中での モニタリング・最大濃 度 0.6ppb
	DEP (虫)	シリカ・アラジ (虫) 6月初旬～ 中旬	藻急(EC50) 5.11 甲急(EC50) >10,000 魚急(LC50) 2,610 甲慢(NOEC) 35 けじまけ・危(LC50) 4,460	散布区域内河川 1 日程度 大河川下流 0.4 ※上流域でも 0.4 の 検出有り	無 400	底生生物 900 プランクトン 400	・水生昆虫について明らかな影響は見られなかつた。 ・水中プランクトンは珪藻類・藍藻類が優先していたが影響は明らか でなかつた。 ・付着藻類の増殖活性がゾリソウの最高濃度の 6/12 に散布区域内河川に おいては減少傾向を示したが一週間後には速やかに回復した。それ以外 については明らかな影響と考へられたが一週間後にはななかつた。 ・現時点では農業による影響の程度を明らかにすることはできなかつ た。	一般河川中での モニタリング・最大濃 度 6.3ppb
	DEP (虫)	シリカ・アラジ (虫) 6月 30 日～7 月 1 日 (航空防除)	藻急(EC50) 7,000 甲急(EC50) 0.51 魚急(LC50) 5,700 甲慢(NOEC) 0.46 けじまけ・危(LC50) 10.4	散布区域内河川 25 日程度 大河川下流 0.2	無	魚類 500 底生生物 700 付着藻類 83.0 プランクトン 1,000	・水生昆虫については明らかな影響は見られなかつた。 ・水中プランクトンは珪藻類の他に藍藻類も優先することもあつた。 ・付着藻類は珪藻類と藍藻類が優先していた。また増殖活性の変動も 小さく明らかな影響は見られなかつた。	一般河川中での モニタリング・最大濃 度 106ppb

表1b 生態影響野外調査結果の概要

調査対象生物種	調査の目的・要要	対象農業	水生生物毒性値($\mu\text{g/L}$)	調査時最高濃度($\mu\text{g/L}$)	急性毒性測定値<測定濃度>期間	水生生物への影響確認状況及び観察	備考
農業生態影響野外調査2 ○調査対象生物種数 珪藻類 19種・属 緑藻類 2種・属 藍藻類 2種・属	他地域から流入する農業の影響がほとんどないと考えられる水田地帯を調査地区(水田約416.3ha)とし、農業の野外における除草剤の流出状況と付着藻類への影響を5月～9月の間調査。	バタフライアフロア(草)	藻急(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50)	上流部(対照区) 下流部 nd	nd 0.033	付着藻類の増殖活性に農薬による影響は認められなかつた。	
農業生態影響野外調査3 (農林水産省航空技術研究所より)平成13年度調査成績 ○調査対象生物種数 プランクトン及び付着藻類 珪藻類 21種・属 緑藻類 12種・属 藍藻類 5種・属 動物性プランクトン類 9種・属 底生生物等 水生昆虫類等 136種・属 最大出現数 22種属 魚介類等 8種属 魚類 3種属	他地域から流入する農業の影響がほとんどないと考えられた水田地帯を調査地区(水田約55ha)とし、実際の野外における農業の派出状況と多くの水生生物への影響状況を5月～7月の間調査。	アハツアフロア(菌) 6月28日(無人ヘリコプターによる散布) による散布	藻急(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50) 藻慢(NOEC) メカ-において実験中	上流部(対照区) 中流部 下流部 54.5	0.07 71.5 54.5	付着藻類については、中・下流域で農薬散布後に出現種数や細胞密度が著しく減少する傾向にあつたが、一週間後には散布前のレベルに速やかに回復した。 これについては、農薬の影響とも考えられるが、①当該農業の蓄性だからそのボテンシャルは高くないこと、②農業が高濃度で放出された同時期に一般の水質にも大きな変動が見られたことから農業による影響かどうかは明らかでなかった。 ・底生生物や水中プランクトンについては、出現総種数や絶対個体数の大きな変動が認められたが、農薬の影響と考えられる明瞭な変動は認められなかつた。	

表 1c 生態影響野外調査結果の概要

調査対象生物種数	調査の目的・概要	対象農業	水生生物毒性値(μg/L)	調査時最高濃度(μg/L)	急性最小毒性/亜急性測定度/期間	水生生物への影響確認状況及び課題	備考
農業生態影響野外調査 (モデル系1) ○調査対象生物種数 珪藻類 30 種・属 緑藻類 13 種・属 藍藻類 8 種・属 動物性プランクトン類 13 種・属 水生昆虫類等 17 種・属	谷津田を用いて農業処理区とその排水が流入する半止水系のモルタル(1区 6a:処理区 2a、調査区 4a)を設定することにより、任意の農業濃度が調査区で得られるようにして水生生物への農業の影響を無処理区と比較。	アブラガモ(草)	藻急(EC50) 0.94 甲急(EC50) 7,000 魚急(LC50) 1,100 甲慢(NOEC) 100	上流部 160 下流部 18	7 日以上 1 日	・水中プランクトン及び付着藻類への影響は上流部・下流部ともに無処理区に比べて明瞭な差は認められなかった。 ・水生昆虫への影響も明瞭ではなかった。	一般河川中でのモニタリング 最大濃度 2.6ppb 空港雨の影響で十分な水量が得られず高水温下での影響調査であった。
農業生態影響野外調査 (モデル系2) ○調査対象生物種数 珪藻類 7 種 緑藻類 6 種 藍藻類 3 種 コケ類 1 種 74ドット類 1 種 シジミ類 1 種 水生植物 3 種	研究所の水田を用いて任意の農業濃度が得られるモデル(1区 30m 2: 処理・調査区 20m 2、排水路 10m 2)を設定することにより、水田用除草剤の藻類への影響を無処理区と比較。	アブラガモ(草)	藻急(EC50) 7,000 甲急(EC50) 0.51 魚急(LC50) 5,700 甲慢(NOEC) 0.46 シジミ類* 危急(LC50) 10 付近 ヨミズキ類(LC50) 90	上流部 233 下流部 7	4 日以上 (1 日) 4 日以上 (無) 0はヨミズキ類のLC50 値を超えた日数	・水中プランクトン及び付着藻類への影響は上流部・下流部ともに無処理区に比べて明瞭な差は認められなかった。 ・水生昆虫への影響も明瞭ではなかった。	一般河川中でのモニタリング 最大濃度 2.6ppb

表3 平成12年度に実施された野外調査1における河川水の生態毒性試験結果

調査場所	魚類種類	7/28	8/3	8/5	8/7	8/11	8/18	9/29	12/4	調査場所	魚類種類	7/28	8/3	8/5	8/7	8/11	8/18	9/29	12/4
H川上流	トリシクラゾール	0.1	0.1	8.9	1.9	1.6	1.2	0.01	0.01	トリシクラゾール	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
	DEP	0.01	0.01	14.6	5.2	0.8	0.2	0.01	0.01	DEP	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
	DDVP	0.01	0.2	6.6	2.1	0.1	0.01	0.01	0.01	DDVP	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
	カルボスルファン	0.01								カルボスルファン	0.01								
	カフェンストロール	0.01								カフェンストロール	0.01								
	ビリダフエンチオン	0.01								ビリダフエンチオン	0.01								
	メダガ生存率	100	100	100	100	100	100	100	100	メダガ生存率	100	100	100	100	100	100	100	100	
	ミジンコ生存率	70	96	0	0	5	45	75	80	ミジンコ生存率	50	50	50	50	50	50	50	50	
	トリシクラゾール	0.01	0.01	5.4	1.6	1.4	0.8	0.01	0.01	トリシクラゾール	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
	DEP	0.01	0.01	5.6	3.2	0.4	0.1	0.01	0.01	DEP	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
H川中流	DDVP	0.01	0.1	7.4	3.6	0.2	0.1	0.01	0.01	DDVP	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
	カルボスルファン	146								カルボスルファン	0.01								
	カフェンストロール	0.01								カフェンストロール	0.01								
	ビリダフエンチオン	0.1								ビリダフエンチオン	0.01								
	メダガ生存率	100	100	100	100	100	100	100	100	メダガ生存率	100	100	100	100	100	100	100	100	
	ミジンコ生存率	95	0	0	0	0	0	0	0	ミジンコ生存率	90	90	90	90	90	90	90	90	
	トリシクラゾール	0.2	0.1	5.2	3.2	1.8	1	0.01	0.01	トリシクラゾール	0.01								
	DEP	0.01	0.01	6.2	0.2	0.3	0.01	0.01	0.01	DEP	0.01								
	DDVP	0.1	0.1	10	8.4	0.3	0.1	0.01	0.01	DDVP	0.01								
	カルボスルファン	0.01								カルボスルファン	0.01								
H川下流	カフェンストロール	0.01								カフェンストロール	0.01								
	ビリダフエンチオン	0.01								ビリダフエンチオン	0.01								
	メダガ生存率	100	100	100	100	100	100	100	100	メダガ生存率	100	100	100	100	100	100	100	100	
	ミジンコ生存率	100	95	0	0	0	0	0	0	ミジンコ生存率	95	85	85	85	85	85	85	85	
	カルボスルファン	0.01								カルボスルファン	0.01								

(注) 環境水濃度: $\mu\text{g}/\text{l}$, 0.01: <0.1, 魚類、ミジンコの試験期間はいずれも48時間

(農業生態影響評価検討会第2次中間報告(平成14年5月)資料編より)

表2 野外調査1から得られた河川における農薬の河川水および生物濃度と関連データ

農薬種類	区分	最大濃度A (ppb)	地点	調査日	区分	最大濃度B (ppb)	地点	調査日	水生生物毒性値 C (ppb)	B/C A/B	(河川水/底質濃度)
カフェンストロール(除草剤) 付着懸濁	底生物 H川上流 500	700	H川上流 H川上流	5/22	河川水 底質 5/22	1.4 1.4	H川下流 H川上流	5/29 5/29	藻類(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50) 甲慢(NOEC) 計付近急(LC50)	1.09 >2,500 2,610 35 4,460	1.3 500 (10)
カフェンストロール脱カルバモイル体 底生物	底生物 H川上流 700	700	H川上流 H川中流	5/22	河川水 底質 河川水 6/19	1.0 5.9	H川下流	5/29	藻急(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50) 甲慢(NOEC)	5.11 >10,000 2,900 35	- 700
シメトリン(除草剤) ブランクトン	底生物 H川上流 400	900	H川中流 H川上流	6/19	河川水 底質 河川水 6/19	5.9	H川上流	6/12	藻急(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50) 甲慢(NOEC)	10,000 2,900 35	1.2 153 (-)
テニルクロール(除草剤) 付着懸濁	魚類 底生物 H川上流 320	310	H川上流 H川上流	5/22	河川水 底質 河川水 5/22	1.26 7.2 61	H川上流 H川上流 H川上流	7/10 5/22 5/22	藻急(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50)	12.9 1,450 1,720	0.56 43 (8.5)
トリシクリゾール(殺菌剤)	魚類 底生物 H川上流 190	170	H川上流 H川上流	8/7	河川水 底質 河川水 8/7	24.3 233	H川上流 H川上流	8/4 8/7	藻急(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50) 甲慢(NOEC)	11,800 31,900 12,600 2,000 計付近急(LC50)44,100	0.0021 7 (9.6)
トリクロルホン	N.D.				河川水 底質 河川水 47	52.9	H川下流	8/4			-
カルボスルファン(殺虫剤)	N.D.				河川水 底質 河川水 47	N.D N.D	H川上流	5/29			-
カルボフラン(殺虫剤) 付着懸濁		200	H川上流	5/22	河川水 底質 河川水 25	1.4 25	H川上流	6/12 6/19	代謝物カルボフラン 藻急(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50)	10,100 20,1 933	0.070 14.3 (18)
ビリダフェンチオン(殺虫剤) ブランクトン		500	H川上流	8/28	河川水 底質 河川水 63	14.5	H川上流	6/30 7/3	藻急(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50) (参考データ)コジ、ア、(LC50)	7,000 0.51 5,700 10付近	28 69 (5.7)
ジクロルボス(DDVP)	N.D.				河川水 底質 河川水 1.0	8.1 8.7	H川下流 C川下流	8/4 8/7	藻急(EC50) 甲急(EC50) 魚急(LC50)	87,800 0.144 11,100	- (0.12)
参考 ブレチラクロール(除草剤)									藻類(EC50)1.3～734、甲殺菌48h-LC50:80 コミズムシ53000、シオカラトンボ幼虫 LC50:>40000、フタバガロウ幼虫 LC50:>40000		

欧米主要国の生態影響評価（水生生物）

等の算定方法	第2段階：(地表流出と一体) 第3段階：(地表流出と一体)	づき、散布された農薬の全てが水深1.5cmの水中に溶けたと仮定してPECを算定。	(BBA公表、Heft305, ベルク) 1995 (ヨーロッパ)及び最近のドイツBBAのドリフト表のデータを利用
	水系における農薬動態	モデルにおいて、分配、分解、吸着を考慮	作物を5分類(普通作物、ぶどう園、果樹、ホップ、野菜・花き)、散布時の生育段階を2段階(初期、後期)、散布地点からの距離を7段階に分け、それぞれの条件毎に散布農薬の水系への混入率を示す標準表を作成済み。
リスク判定	EEC/LD50(又はNOEL) ≥ LOC	割り算法。証拠が重要。	P EC/P NECの比
リリース削減のための使用規制	使用制限、安全性に関する注意事項をラベル表示	ラベル表示文書にて、野生生物の生息地周辺でのバッファーゾーンを明示	P EC/P NECの比
散布禁止ゾーン(バッファーゾーン)	○ドリフト及び地表流出の防止のための緩衝帯の設定	規定なし	○ドリフト防止のための安全距離ガイドライン(注9) 農耕地 果樹園・ぶどう園 ホップ園 野菜畠・花畠 (圃場散布装置の場合) (簡易型散布装置の場合) ○地表流出による汚染削減のための特別使用規制
			バッファーゾーン ・トラックに装着した散布機使用の場合、水面境界より6m ・手持ち散布の場合、2m ・空中散布の場合(例えば果樹園) 50m 10m 20m 50m 10m 10m 20m 10m 検討中

(農業生態影響評価検討会第1次中間報告(平成11年1月)) 資料集からの抜粋)

(注1) 毒性的に問題があると思われる代謝物に対して慢性獣類試験を要求。

(注2) 規制を目的として新たなデータ要求を検討中。

(注3) 特別なケースにおいて有効成分と代謝物に対して要求。

(注4) 有効成分又は代謝物のみ対象。

(注5) 水中殘留性がある場合にケースバイケースで要求。

(注6) ケースバイケースで要求。

(注7) 試験は無条件に要求されるわけではなく、使用方法、剤型及び初期リスク評価により必要と思われる場合に要求される。
(注8) 剤には要求せず。水一底質試験で代謝物が10%以上生じる場合に当該代謝物に対して要求。

(注9) 個別の事例(とうもろこし、空中散布、材木への処理等)については、この数値に従わなくて良い。

水産動植物への影響に関する試験ガイドライン

〔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〕

魚類急性毒性試験

1. 目的

本試験は、魚類に対する被験物質の短期的影響に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時における安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

2. 定義

- (1) 死亡：観察可能な動き（鰓ぶたの動き等）がなく、尾柄部に触れて反応がない場合魚は死亡しているとみなす。
- (2) LC₅₀ (Median Lethal Concentration: 半数致死濃度)：暴露期間中に供試生物の50%が死亡する被験物質の濃度をいう。
- (3) NOEC (No Observed Effect Concentration: 最大無影響濃度)：対照区と比べて、何ら影響が認められない試験最高濃度をいう。
- (4) 被験物質：試験に用いる農薬の原体又は製剤をいう。
- (5) 基準物質：試験条件の再現性等を確認するために用いる物質をいう。
- (6) 試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。
- (7) 止水式試験：暴露期間中試験液を交換しない方式で行う試験をいう。
- (8) 半止水式試験：一定期間ごと試験液を容器ごとに交換する方式で行う試験をいう。
- (9) 流水式試験：連続的に試験液を供給する方式で行う試験をいう。

3. 供試生物

(1) 生物種

- ① 供試魚は、別表の魚種の中から選択する。
- ② 基準物質でのLC₅₀を確認することが望ましい。

(2) 順化

- ① 供試魚は、試験に供する12日前までには入手し、維持しなければならない。
- ② 必要に応じて、入手時に薬浴を行う。
- ③ 供試魚は、試験に供する前の少なくとも9日間は、試験時における環境条件（水質等）と同様の条件下で順化しなければならない。
- ④ 餌は少なくとも週に5回与え、供試前24時間は給餌を行ってはならない。
- ⑤ 以下に掲げる基準により順化を行い、死亡率を記録する。

ア 順化開始後2日間の安定期間に続く7日間の死亡率が群の個体数の10%を超える場合には、当該群は廃棄する。

イ 群の死亡率が5~10%の場合、さらに7日間順化を継続し、群の死亡率が5%以上の場合は、当該群を廃棄するか、死亡率が5%未満になるまで順化を継続する。

ウ 群の死亡率が5%未満の場合において当該群の魚類を試験に供するものとする。

4. 暴露方法

止水式、半止水式又は流水式により試験を行う。

5. 暴露期間

96時間とする。

6. 供試魚数及び試験区の設定

(1) 供試魚数

試験区ごとに、少なくとも7尾使用する。

(2) 試験区の設定

① 試験濃度区の設定

ア 等比級数的に少なくとも5濃度区を設ける。

イ 試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果から定める。

ウ 濃度範囲には、供試魚のすべてが死亡する濃度と全く死亡しない濃度が少なくともそれぞれ1濃度、一部が死亡する濃度については、少なくとも2濃度含まれることが望ましい。

② 対照区の設定

ア 対照として、被験物質を含まない無処理対照区を設ける。

イ 試験原液の調製に助剤を使用した場合は、使用最高濃度の助剤を含む助剤対照区を設ける。

7. 試験液の調製

試験液の調製方法は、以下のとおりとする。なお、試験液及び試験原液は、試験に供する直前に調製することが望ましい。

(1) 原体を被験物質として用いる場合

① 易水溶性原体の場合は、被験物質を希釈水に溶解して試験液又は試験原液を調製する。

② 難水溶性原体の場合は、被験物質を機械的な手法により分散して試験液又は試験原液を調製するか、有機溶剤、乳化剤、分散剤等の助剤を用いて試験原液を調製する。助剤は、供試魚に対して毒性が弱く、使用濃度で供試魚に対して有害性が認められず、かつ、被験物質の性質を変えないものを用いる。

③ 助剤の試験液中濃度は、 100mg/l （又は 0.1ml/l ）を超えないことが望ましい。

(2) 製剤を被験物質として用いる場合

製剤を希釈水に加え攪拌し、試験液又は試験原液を調製する。なお、製剤の調製には助剤は用いない。

8. 環境条件

(1) 収容密度

① 止水式及び半止水式による試験では、供試魚 1g 当たり 1リットル 以上の試験液量が必要である。

② 流水式試験では、さらに高い収容密度で試験を行うことができる。

(2) 水温

供試魚種の設定温度は別表のとおりとし、変動範囲は $\pm 2^\circ\text{C}$ 以内とする。

(3) 照明

12～16時間明期とする。

(4) 紿餌

暴露期間中は紘餌を行わない。

(5) 希釀水

① 試験に用いる水は、有害物質等試験の妨げになるものを含まず、飼育に用いた水と同じ供給源のもので、魚が良好に生存又は成長ができる水質であることが確認されているものを用いる。

② 脱塩素水道水、天然水又は人工調製水を用いる。

③ 使用前には十分に暴氣するとともに、温度調節を行う。

(6) 溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して飽和濃度の60%以上を保つようにする。必要に応じてゆるやかな暴氣を行う。

(7) pH

試験液のpH調整は行わない。

9. 観察及び測定

(1) 供試魚の一般状態の観察

暴露開始後、少なくとも24、48、72及び96時間目に供試魚の一般状態を観察し、記録する。死亡魚は速かに試験系から取り除く。また、観察された異常は記録する。

(2) 被験物質濃度の測定

① 原体を被験物質として用いた場合には、各試験濃度区における被験物質の濃度を少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

② 被験物質濃度は、暴露期間中、設定濃度の80%以上であることが望ましい。

(3) 環境条件の測定

① 試験に先立って希釀水の水質を確認する。

② 各試験区における試験液の水温、溶存酸素濃度及びpHを少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

10. 結果の処理法

(1) 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LC₅₀を算定する。

(2) 被験物質濃度の測定値が設定濃度から±20%以上変動している場合は、測定濃度の平均値に基づきLC₅₀を算定する。

11. 報告事項

(1) 試験物質について

(2) 試験魚について

種名、供給源、飼育方法、順化、供試魚数、供試魚の全長・体重、基準物質のLC₅₀等

(3) 試験方法について

暴露条件、環境条件、観察及び測定項目等

(4) 試験結果について

① LC₅₀及びその95%信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)

② LC₅₀の算定方法

③ NOEC (NOECの値が求められなかった場合は、その理由を記すこと。)

④ 各観察時間における各試験区での累積死亡率

- ⑤ 暴露終了時における濃度－死亡率曲線のグラフ
- ⑥ 供試魚の異常な症状及び反応
- ⑦ 被験物質濃度の測定値(原体を被験物質として用いた場合のみ)
- ⑧ 環境条件の測定結果
水質、溶存酸素濃度、pH等
- ⑨ その他の事項
試験液の状態、試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項等

12. 試験の妥当性

- (1) 暴露終了時において対照区の死亡率が10%を超えてはならない。ただし、10尾より少ない数を用いた場合は死亡が1尾を超えてはならない。
- (2) 溶存酸素濃度は暴露期間中、飽和濃度の60%以上でなければならない。

別表 試験生物種の条件及び設定温度

魚種	設定温度 (°C)	試験魚の全長 (cm)
コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	20～24	5.0 ± 1.0
ヒメダカ (<i>Oryzias latipes</i>)	21～25	2.0 ± 1.0
ブルーギル (<i>Lepomis macrochirus</i>)	21～25	3.0 ± 1.0
ニジマス (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	13～17	5.0 ± 1.0
グッピー (<i>Poecilia reticulata</i>)	21～25	2.0 ± 1.0
ゼブラダニオ (<i>Brachydanio rerio</i>)	21～25	2.0 ± 1.0
ファットヘッドミノー (<i>Pimephales promelas</i>)	21～25	2.0 ± 1.0

ミジンコ類急性遊泳阻害試験(2-7-2-1)

1. 目的

本試験は、甲殻類に対する被験物質の短期的影響に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時における安全な取扱方法を確立することを目的とする。

2. 定義

- (1) 遊泳阻害：試験容器を軽く振とうした後、15秒間全く水中を遊泳しない場合、遊泳阻害されたとみなす。
- (2) EC₅₀ (Median Effect Concentration : 半数遊泳阻害濃度) : 暴露期間に供試生物

の50%を遊泳阻害する被験物質の濃度をいう。

- (3) NOEC (No Observed Effect Concentration : 最大無影響濃度) : 対照区と比べて、何ら影響が認められない試験最高濃度をいう。
- (4) 被験物質 : 試験に用いる農薬の原体又は製剤をいう。
- (5) 基準物質 : 試験条件の再現性等を確認するために用いる物質をいう。
- (6) 試験物質 : 試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。
- (7) 止水式試験 : 暴露期間中試験液を交換しない方式で行う試験をいう。
- (8) 半止水式試験 : 一定期間ごと試験液を容器ごとに交換する方式で行う試験をいう。
- (9) 流水式試験 : 連続的に試験液を供給する方式で行う試験をいう。

3. 供試生物

(1) 生物種

- ① オオミジンコ (*Daphnia magna*) を用いる。ただし、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てもよい。
- ② 供試生物は、経歴(入手源、飼育方法等)の明らかなものを用いる。
- ③ 基準物質でのEC₅₀を確認することが望ましい。

(2) 生育段階

生後24時間以内の個体(以下「幼体」という。)を用いる。

(3) 親ミジンコの飼育

幼体を得るための親ミジンコは、可能な限り試験環境条件(試験に用いる希釀水と同一の水質、水温等)に近い条件で一定期間飼育し、健康で繁殖の盛んな時期(通常2~4週齢)のものを用いる。

4. 暴露方法

止水式、半止水式又は流水式により試験を行う。

5. 暴露期間

48時間とする。ただし、供試生物の種によっては24時間とすることができる。

6. 供試生物数及び試験区の設定

(1) 供試生物数

試験区ごとに少なくとも20頭の供試生物を使用し、必要に応じて観察が可能な個体数に分割する。

(2) 試験区の設定

① 試験濃度区の設定

ア 等比級数的に少なくとも5濃度区を設ける。

イ 試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果から定める。

ウ 濃度範囲には、供試生物のすべてを遊泳阻害する濃度と全く遊泳阻害しない濃度が少なくともそれぞれ1濃度、一部を遊泳阻害する濃度が少なくとも2濃度含まれることが望ましい。

② 対照区の設定

ア 被験物質を含まない無処理対照区を設ける。

イ 試験原液の調製に助剤を使用した場合は、使用最高濃度の助剤を含む助剤対照区を設ける。

7. 試験液の調製

試験液の調製方法は、以下のとおりとする。なお、試験液及び試験原液は、試験に供する直前に調製することが望ましい。

(1) 原体を被験物質として用いる場合

- ① 易水溶性原体の場合は、被験物質を希釈水に溶解して試験液又は試験原液を調製する。
- ② 難水溶性原体の場合は、被験物質を機械的な手法により分散して試験液又は試験原液を調製するか、有機溶剤、乳化剤、分散剤等の助剤を用いて試験原液を調製する。助剤は、供試生物に対して毒性が弱く、使用濃度で供試生物に対して有害性が認められず、かつ、被験物質の性質を変えないものを用いること。
- ③ 助剤の試験液中濃度は、 100mg/l (又は 0.1ml/l) を超えないことが望ましい。

(2) 製剤を被験物質として用いる場合

製剤を希釈水に加え攪拌し、試験液又は試験原液を調製する。なお、製剤の調製には助剤は用いない。

8. 環境条件

(1) 試験液量

ミジンコ 1頭当たり 5ml 以上とする。

(2) 水温

設定温度は 20°C とし、試験期間中の変動範囲は $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 以内とする。

(3) 照明

12~16時間明期が望ましい。

(4) 給餌

暴露期間中は給餌を行わない。

(5) 希釈水

- ① 試験に用いる水は、有害物質等試験の妨げになるものを含まず、飼育に用いた水と同じ供給源のもので、ミジンコが良好に生存し、繁殖できる水質であることが確認されているものを用いる。
- ② 脱塩素水道水、天然水又は人工調製水を用いる。
- ③ 使用前には十分に曝気するとともに、温度調節を行う。

(6) 溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して飽和濃度の60%以上に保つようにする。

(7) pH

試験液のpH調整は行わない。

9. 観察及び測定

(1) 供試生物の一般状態の観察

暴露開始後24時間目及び48時間目における遊泳阻害の有無について観察し記録する。

(2) 被験物質濃度の測定

- ① 原体を被験物質として用いた場合には、各試験濃度区における被験物質の濃度を少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。
なお、試験区ごとに複数の容器を設けている場合には、各容器から試験液を等量採取し混和後、測定用試料に供する。
- ② 被験物質濃度は、暴露期間中、設定濃度の80%以上であることが望ましい。

(3) 環境条件の測定

- ① 試験に先立って希釈水の水質を確認する。
- ② 各試験区における試験液の水温、溶存酸素濃度及びpHを少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

10. 結果の処理法

- (1) 各濃度における遊泳阻害率の結果から、一般的に用いられる手法を用いてEC₅₀を算定する。
- (2) 被験物質濃度の測定値が設定濃度から±20%以上変動している場合は、測定濃度の平均値に基づきEC₅₀を算定する。

11. 報告事項

- (1) 試験物質について
- (2) 供試生物について
種名、経歴（入手源、飼育方法等）、基準物質のEC₅₀等
- (3) 試験方法について
暴露条件、環境条件、観察、測定項目等
- (4) 試験結果について
 - ① EC₅₀及びその95%信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)
 - ② EC₅₀の算定方法
 - ③ NOEC (NOECの値が求められなかった場合は、その理由を記す。)
 - ④ 各観察時間における各試験区での累積遊泳阻害率
 - ⑤ 暴露終了時における濃度－遊泳阻害率曲線のグラフ
 - ⑥ 観察された影響
 - ⑦ 被験物質濃度の測定値(原体を被験物質として用いた場合のみ)
 - ⑧ 環境条件の測定結果
水質、溶存酸素濃度、pH等
 - ⑨ その他の事項
試験液の状態、試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項等

12. 試験の妥当性

- (1) 暴露終了時において対照区の遊泳阻害率が10%を超えてはならない。
- (2) 暴露開始時において対照区のミジンコが水面に浮いていてはならない。
- (3) 溶存酸素濃度は暴露期間中、飽和濃度の60%以上でなければならない。

藻類生長阻害試験(2-7-3)

1. 目的

本試験は、藻類の生長に対する被験物質の影響に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時における安全な取扱方法を確立することを目的とする。

2. 定義

- (1) 細胞濃度：1ml当たりの細胞数をいう。
- (2) 生長：試験期間を通じての細胞濃度の増加をいう。

- (3) 生長速度：単位時間当たりの細胞濃度の増加をいう。
- (4) EC₅₀ (Median Effect Concentration : 半数生長阻害濃度)：対照区と比べて50%生長阻害される試験濃度をいう。
- (5) NOEC (No Observed Effect Concentration : 最大無影響濃度)：対照区と比べて影響が認められない試験最高濃度をいう。
- (6) 被験物質：試験に用いる農薬の原体又は製剤をいう。
- (7) 基準物質：試験条件の再現性等を確認するために用いる物質をいう。
- (8) 試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。

3. 供試生物

(1) 生物種

- ① *Selenastrum capricornutum* を用いることが望ましい。ただし、培養及び試験に都合がよく、生長が速いものであれば、下記に掲げる種その他の種及び株を用いてもよい。
 - ア *Selenastrum capricornutum* (ATCC 22662株)
 - イ *Scenedesmus subspicatus* (86.81 SAG株)
 - ウ *Chlorella vulgaris* (CCAP 211/11b株)
- ② 基準物質でのEC₅₀を確認することが望ましい。

(2) 培養方法

供試藻類は、試験条件に近い培養条件で前培養を行い、対数増殖期にあるものを用いる。原則として培養は、無菌条件下で行う。

(3) 初期細胞濃度

試験培地の初期細胞濃度は、約10⁴cells/m l が適当である。

4. 暴露方法

被験物質を含む培地で処理する方式を用い、振とう又は静置培養を行う。

5. 暴露期間

72時間とする。ただし、96時間まで延長することができる。

6. 試験区の設定

(1) 試験濃度区の設定

- ① 等比級数的に少なくとも5濃度区を設ける。
- ② 試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果から定める。
- ③ 濃度範囲には、供試藻類の生長がほとんど阻害される濃度と全く阻害されない濃度を少なくともそれぞれ1濃度ずつ、藻類の生長が一部阻害される濃度が少なくとも2濃度含まれることが望ましい。

(2) 対照区の設定

- ① 対照区として、被験物質を含まない無処理対照区を設ける。
- ② 試験培地の調製に助剤を使用した場合は、使用最高濃度の助剤を含む助剤対照区を設ける。

(3) 試験区の連数

試験は、各濃度区及び対照区とも3連で行う。

7. 試験培地の調製方法

試験培地の調製方法は、以下のとおりとする。なお、試験培地は、試験に供する直前に調製することが望ましい。

(1) 原体を被験物質として用いる場合

- ① 易水溶性原体の場合は、適切な方法で滅菌した培地に被験物質を溶解して、試験原液を調製する。試験培地は、試験原液を滅菌した培地で希釈した後、これに藻類懸濁液を加えて調製する。
- ② 難水溶性原体の場合は、以下のいずれかの方法により試験培地を調製する。
 - ア 被験物質を有機溶剤等の助剤に溶かした試験原液を用いて試験培地を調製する。この場合、助剤は、試験生物に対して毒性が弱く使用濃度で供試生物に対して有害性が認められず、かつ、被験物質の性質を変えないものを用いる。助剤の試験液中濃度は、100mg/l (又は0.1ml/l)を超えないことが望ましい。
 - イ 各濃度ごとに必要量の被験物質を無菌操作により滅菌培地に加え、攪拌、超音波処理等を行い、これに藻類懸濁液を加え、試験培地を調製する。

(2) 製剤を被験物質として用いる場合

製剤を滅菌培地に加え攪拌し、試験原液とする。試験培地は、試験原液を滅菌した培地で希釈した後、藻類懸濁液を加えて調製する。なお、製剤の試験では助剤は用いない。

8. 環境条件

(1) 培養方法

- ① 無菌培養とする。
- ② 試験期間中は試験培地を懸濁状態に保つとともに、通気を促進するため、試験容器を振とう又は攪拌することが望ましい。静置培養で行う場合には、少なくとも1日に2回振とうする。

(2) 培養温度

設定温度は21~25°Cとし、試験期間中の変動範囲は±2°C以内とする。

(3) 照明

400~700nmのスペクトル幅で連続的に均一照射し、液面付近で4000lux程度の照度が望ましい。

(4) 培地

① 培地の種類

OECD培地 (OECDテストガイドライン201 Alga Growth Inhibition Test(1984))又はAAP(AGP) 培地(U.S.EPA:Alga Assay Procedure:Bottle Test, National Environmental Research Center, Corvallis, Oregon(1971))を用いることが望ましい。

② 培地の量

培地の量は、細胞濃度の測定法及び被験物質濃度の測定法により異なるが、100ml程度が望ましい。

9. 観察及び測定

(1) 細胞濃度の測定

個々の試験容器中の細胞濃度は、暴露開始後24時間間隔で暴露終了時まで測定する。

(2) 被験物質濃度の測定

- ① 原体を被験物質として用いた場合には、各試験濃度区ごとに被験物質の濃度を少なくとも暴露開始時及び終了時に測定する。

- ② 被験物質濃度区ごとに各容器から試験液を等量採取し、混和後、測定用試料に供

する。

(3) 環境条件の測定

- ① 各試験区（試験濃度区、対照区）の1容器について、試験培地の水温及びpHを測定する。
- ② 測定は、少なくとも暴露開始時及び終了時に行う。

10. 結果の処理法

(1) 濃度一阻害率の算出法

試験濃度区と対照区の細胞濃度は測定時間と被験物質（原体を被験物質として用いた場合は実測値）の濃度とともに表にする。それぞれの試験濃度区と対照区の細胞数の平均値を時間に対してプロットし生長曲線を描く。面積法及び速度法を用いて各濃度での生長阻害率を計算する。

(2) EC₅₀の算定

各濃度における生長阻害率の結果から、一般的に用いられる手法を用いてEC₅₀を算定する。

11. 回復試験の実施について

必要に応じて、生長阻害が認められた培養液を希釀してさらに培養し、藻類の細胞濃度がどの程度回復するかを明らかにするための回復試験を行う。

12. 報告事項

(1) 試験物質について

(2) 供試生物について

種名、株名、入手源、基準物質のEC₅₀等

(3) 試験方法について

暴露条件、環境条件、観察及び測定項目等

(4) 試験結果について

① EC₅₀及びその95%信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)

② EC₅₀の算定方法

③ NOEC (NOECの値が求められなかつた場合はその理由を記す。)

④ 各観察時間における各試験区の細胞濃度及びその平均値

⑤ 細胞の計数方法

⑥ 生長曲線

⑦ 濃度一生長阻害率の関係を示すグラフ

⑧ 観察された影響

⑨ 被験物質濃度の測定値(原体を被験物質として用いた場合のみ)

⑩ 環境条件の測定結果

水質、pH等

⑪ その他の事項

試験液の状態、試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項等

13. 試験の妥当性

対照区の細胞濃度は、試験開始後72時間目において、試験開始時における細胞濃度の16倍以上に増加しなければならない。

農薬取締法関係条文及び関係告示

◎ 農業取締法

卷三十一

(記載事項の訂正又は品質改良の指摘)
第三条 農林水産大臣は、前条第三項の検査の結果、次の各号の一に該当する場合は、同項の規定による登録を保留して、

(農業資材審議会)
第十六条 農林大臣は、第一条の二第一項の政令の制定若しくは改定の立派をしようとするとき、第一条の三の規定に

昭一四・右・三・二・法律一五五 昭二五・四・二・八・法
律一三・昭二六・四・二・〇・法律一五一 昭三七・
九・一・五・法律一六一 昭三八・四・一・一・法律八七
昭四六・一・一・四・法律一六二・五・三・一・法律八
八 昭三三・四・二・四・法律二七・昭四五・七・五・法
律八七・昭五六・五・一・九・法律四四・昭五八・五
二・五・法律五七・昭五八・一一・二・法律七八・昭五八
・一一・一・〇・法律八三・昭五九・五・一・法律二三
平五・一・一・一・二・法律八九・平一・一・七・一・六・法律
八七・平一・一・二・一・二・二・法律六〇・平一・一・一
二・一・三・法律一八七 平一二・五・三・一・法律九一

貞的

二 前条第一項第四号の事項についての申請書の記載に從つて、
三 当該農業を使用する場合に「栽培作物等」に害があるとき
を講じた場合においてもなお人畜に危険を及ぼすおそれがあるとき。
四 前条第二項第四号の事項についての申請書の記載に從つて、

因となりて人畜に被害を生ずるおそれがあるとき
五 前条第二項第四号の事項についての申請書の記載に從つて
当該農業を使用する場合に、当該農業が有する土壤についての残留性の程度からみて、その使用に係る農地等の土壤汚染が生じ、かつ、その汚染により汚染される農作物の利用が原因となって人畜に被害を生ずるおそれがあると

六、当該種類の漁獲が、その相当の量を取扱うものに於て漁獲
一項第四項の要領に基づく申請書の記載に従つて一般的
使用せらるゝとした場合に、その水産動物に対する属性
種別及びその漁獲地が當該四項に付したる種別か認められ
て不適切、その採用に付すべき認められない水産動物の採
用が生じ、かつ、その被審者が争ひるものとなるやれどが
るといふ。

七 当該種類の農業が、その相当の普及状態のもとに前項第一項に規定する事項についての申請書の記載に従つて一般的に使用されるとした場合に、多くの場合、その使用に伴うと認められる公共用水域（水質汚濁防止規則第百四十五号法律第三百三十九条）第一項第一項に規定する公共用水域をこなう、十二条の四において同じ）、の水質の汚濁が生じ、かゝる汚濁に係る水（やの汚濁により汚染される水）運動場を含む。十二条の四において同じ。）の利用が原因となりて人畜に被害を生ずるおそれがあるとき。

八 当該農業の名称が、その主成分又は効果について誤解を生ずるおそれがあるものであるとき。

九 当該農業の薬効が著しく劣り、農業としての使用価値がないと認められるとき。

十 公定規格が定められていない種類に属する農業については、当該農業が公定規格に適合せず、かつ、その薬効が公定規格に適合してゐる当該種類の他の農業の薬効に比して

2 横須賀市議が市議七席ある中でどうすれば横須賀市議会に議案
が通るか打合せの結果は、横須賀市議会が定めて告示する。

薬の成分に係る回復の観察に基いて、規格が定められて、ない場合には、当該種類の農業の毒性及び燃着性に関する試験成績に基いて環境大臣が定める基準。大寺口において同じことだと思ふんだよな」となつた。

する期間が、本試験及び各登場試験において一年未満であるか、かつ、審査の体内に蓄積される性質を有する農業であれば、法第二条第二項第四号の事項についての申請書の記載に従い当該農業を使用した場合に、その使用に係る農地

られてしない場合には、当該種類の農業の特性に関する試験成績、使用方法等に基づき環境大臣が定める基準に適合しない場合)は、法第三条第一項第七号(法第十五条の二第六条において適用する場合を含む)に掲げる場合に該当するもの

卷之三

○農業取締法第三条第一項第四号から第七号までに掲げる場合に該当するかどうかの基準を定める等の件

新編一九四七年十月卷之三

赤色二三，牙頭三三，火頭微凹，年一三，三三，一四標告七八

合に、その使用に係る農作物等に当該農業用成分物質等が含まれることとなること（その残留量がをもて微量であつて、その毒性があげて誤りと等の理由によつて有する）、

（二）当該農業用成分物質等が次の要件のすべてを満たす場合に、法第三条第一項第一号（法第十一条の二第二項第一号）に規定する場合を含む）に掲げる場合は、法第十五条の二第一項において規定する場合に該当するものとする。

（三）当該農業用成分物質等が水田において使用されないものとの想定される方法等が、特許料と認定のための審査において、回収に適する場合はに該当するものとする。

（四）半致死濃度（LC₅₀）をもつて使用した生物活性方法等が、

別表略

の二第六項における「使用する場合を含む」と掲げる場合には、
法第二条第二項第四号(法第十五条の二第六項における「
準用する場合を含む。」に同じ)の事項に「」の書き
書の記載に從り、当該農業を使用した場合に、その使用に
る農作物(樹木及び農林植物を含む。以下「農作物等」)
の汚染が生じ、かゝる汚染を除く農作物等又は
その加工品の飲食用品が食品衛生法(昭和二十一年法律
二二四三十二号)第七条第一項の規定に當りて規格(当該

別表

2 1
この表示においてP.P.M.は、百万分率を示す。
2 2
は場試験及び室内試験は、別表に掲げる方法によるも
とである。