

Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

農薬によるトンボ類生態影響実態の科学的解明および対策

(4-1701)

平成29年度～令和元年度

Scientific Clarification and Countermeasure to Ecological Impacts of Pesticides on Dragonflies

(英文パンフレット等 : https://www.env.go.jp/policy/kenkyu/suishin/english/gaiyou/gaiyou_6.html)

〈研究代表機関〉

国立研究開発法人国立環境研究所

〈研究分担機関〉

学校法人近畿大学

国立大学法人佐賀大学

〈研究協力機関〉

令和2年5月

I. 成果の概要	1
1. はじめに（研究背景等）	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発の方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた主な成果	
6. 研究成果の主な発表状況	
7. 研究者略歴	
II. 成果の詳細	16
II-1 生態リスク評価のための毒性試験高度化 （国立研究開発法人国立環境研究所） 要旨	
1. はじめに	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
II-2 メソコズム試験による生態影響評価 （近畿大学） 要旨	29
1. はじめに	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
II-3 野外調査による生態影響評価 （佐賀大学） 要旨	42
1. はじめに	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発方法	

- 4. 結果及び考察
- 5. 本研究により得られた成果
- 6. 国際共同研究等の状況
- 7. 研究成果の発表状況
- 8. 引用文献

II-4 生態影響の因果推論手法開発 54
(国立研究開発法人国立環境研究所)

- 1. はじめに
- 2. 研究開発目的
- 3. 研究開発方法
- 4. 結果及び考察
- 5. 本研究により得られた成果
- 6. 国際共同研究等の状況
- 7. 研究成果の発表状況

II-5 全国レベルのトンボ類分布実態調査 67
(国立研究開発法人国立環境研究所)

- 1. はじめに
- 2. 研究開発目的
- 3. 研究開発方法
- 4. 結果及び考察
- 5. 本研究により得られた成果
- 6. 国際共同研究等の状況
- 7. 研究成果の発表状況

引用文献

III. 英文Abstract 77

I. 成果の概要

課題名 4-1701 農薬によるトンボ類生態影響実態の科学的解明および対策

課題代表者名 五箇 公一 (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
生態リスク評価・対策研究室室長)

研究実施期間 平成29～令和元年度

研究経費(累計額) 137,470千円
(H29年度:46,600千円、H30年度44,270千円、R1年度:46,600千円)

本研究のキーワード 農薬、殺虫剤、除草剤、ネオニコチノイド、フィプロニル、トンボ、アキアカネ、土地利用、リスク評価、毒性試験

研究体制

- (1) 生態リスク評価のための毒性試験高度化(国立研究開発法人国立環境研究所)
- (2) メソコズム試験による生態影響評価(学校法人近畿大学)
- (3) 野外調査による生態影響評価(国立大学法人佐賀大学)
- (4) 生態影響の因果推論手法開発(国立研究開発法人国立環境研究所)
- (5) 全国レベルでのトンボ類への農薬リスクマップ作成(国立研究開発法人国立環境研究所)

1. はじめに(研究背景等)

近年、世界的にネオニコチノイド農薬による生態影響が議論されている。本系統剤は、植物体の根から吸収されて植物体内に移行・蓄積することで、吸汁性害虫の加害を抑制するという特性をもち、様々な農作物で広く適用されている。一方、本系統剤の広域使用が害虫以外の生物相に悪影響を及ぼしている可能性が2010年頃より世界各地で指摘されている。欧米では、ハナバチ類の減少要因として本系統剤が疑われており、EUは2013年よりネオニコチノイド系農薬数剤の使用禁止措置を継続している。国内においては、本系統剤はイネの苗箱に粒剤処理をして、処理苗を水田に植えることで害虫を防除する「箱苗施用剤」として多用されており、水田および周辺水系における水生生物に対する生態影響が懸念されている。特にトンボ類が2000年代以降急速に減少しているとされ、ネオニコチノイド農薬の普及率と相関があると指摘されている。里山生態系の象徴的生物でもあるトンボ類の減少は研究者・政策関係者のみならず、一般の関心も高く、EUを倣ってネオニコチノイド農薬の使用停止を政策に求める声が高まっている。一方、野生のトンボ類減少には農薬以外の環境要因も多数関与していると考えられ、また実際の圃場においては殺虫剤のみならず、殺菌剤・除草剤など様々な薬剤が使用されている。そのため、トンボ類の個体群動態とネオニコチノイド農薬の普及率の相関関係のみから、ネオニコチノイド農薬による影響を判断することは難しい。ネオニコチノイド農薬の規制にあたっては、定量的データに基づく生態リスクの科学的な分析が強く求められる(図1)。

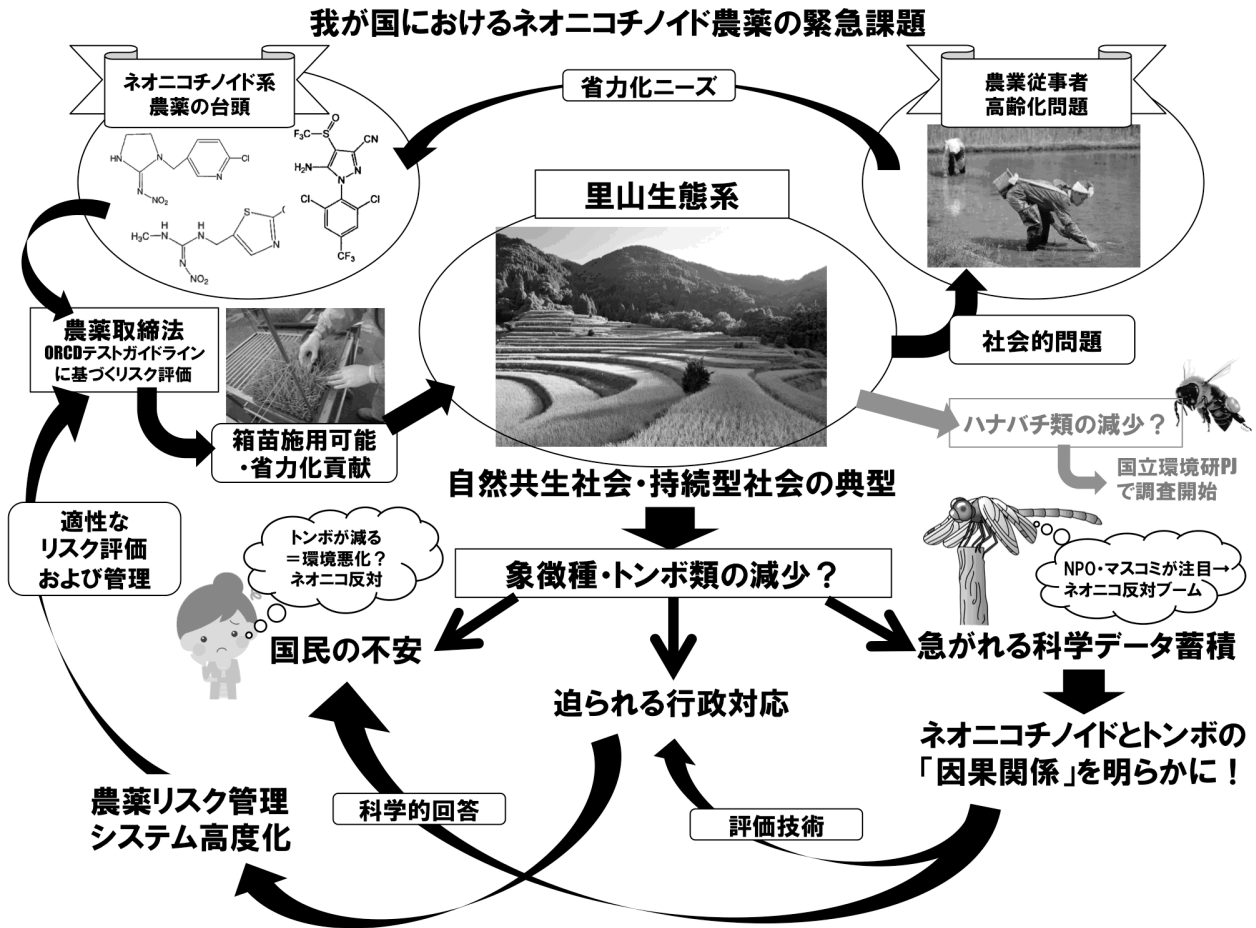


図1 水田農業における生態影響問題

2. 研究開発目的

本課題では野外におけるトンボ類減少のメカニズムを農薬科学のみならず、群集生態学・景観生態学の観点からも科学的に検証し、要因解明を行う。さらに、農薬の生態リスク低減のための管理手法を開発し、新しい時代の農薬管理システムを行政に提言することを目標とする。これらの課題を遂行するために水田メソコズム試験や野外調査によって野生トンボ類の個体群動態および群集動態に影響を及ぼしている要因を分析し、農薬による影響の大きさを明らかにする。これらのデータに基づき地域レベル・全国レベルでのトンボ類動態データを収集・整理を行った上で、トンボ類リスクマップを作成してトンボ類保全戦略を検討する。そして具体的な対策としてトンボ類を対象とした農薬の生態リスク評価のための毒性試験の高度化を図る（図2）。

【4-1701】農業によるトンボ類生態影響実態の科学的解明および対策(国立環境研究所)

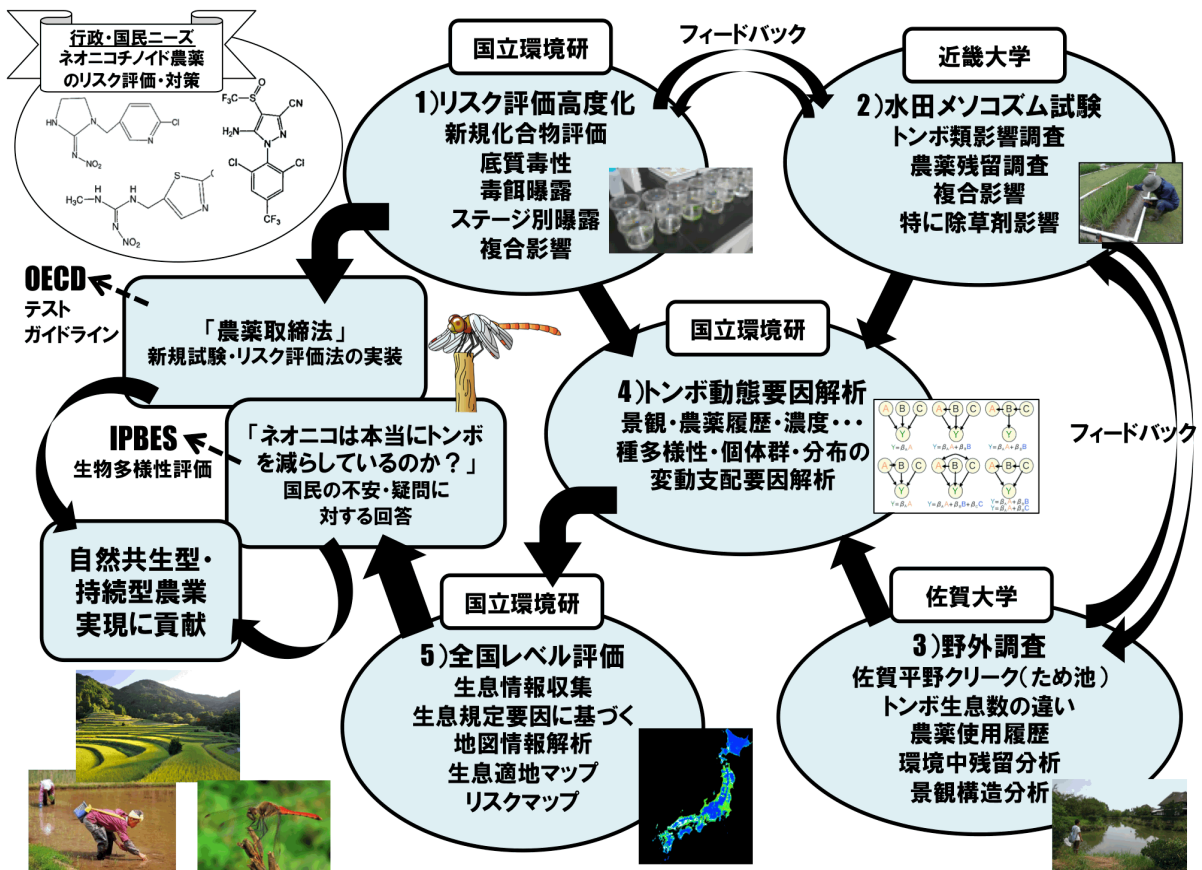


図2 本研究課題の研究概要

3. 研究開発の方法

(1) 生態リスク評価のための毒性試験高度化

①OECDテストガイドラインの見直し、問題点抽出:

現在の農薬取締法において農薬の水生物リスク評価は、OECDテストガイドラインに準拠し魚類急性毒性試験、ミジンコ類急性遊泳阻害試験、藻類生長阻害試験の結果をもとに行うこととなっている。また、薬剤感受性の種間差を考慮した評価を行う観点から、新たにユスリカ類急性遊泳阻害試験が追加されることとなった。これらはそれぞれ高次捕食者、低次捕食者、生産者の代表とされ、これらに対する影響の少ない剤は生態リスクが低いという前提が置かれている。しかしながら、こうした仮定および現行のリスク評価システムの不備や綻びについても様々な角度から指摘されている。そこで、特に節足動物に焦点を当て、OECDテストガイドラインに準拠したリスク評価の問題点について改めて整理した。

②トンボ類試験個体の安定的供給システムの検討:

トンボ類幼虫を用いたリスク評価手法を確立する上では、供試昆虫の安定的な確保が重要である。そこで、既に国立環境研究所でマニュアル化されているアオモンイトトンボの累代飼育法を見直し、現行の飼育方法およびその問題点を明確にするとともに、問題点の改善案について検討を行った。

③急性毒性試験による感受性比較:

我が国には200種を超えるトンボ目昆虫が生息することから、その中でも種によって薬剤感受性に差があることが想定され、実際にそれを示唆する報告もある。そこで、水田周辺水域で見られる代表的なトンボ種であり、均翅亜目と不均翅亜目というトンボ目の中の主要な2亜目に属するアオモンイトトンボおよびアキアカネを試験生物として選定し、感受性の比較を行った。両種の孵化幼虫を用いて、フェニルピラゾール系殺虫剤であるフィプロニルおよびその分解産物3種（フィプロニルスルホン、フィプ

ロニルスルフィド、およびフィプロニルデスルフィニル)、およびエチプロールに対する急性毒性試験を行い、遊泳阻害をエンドポイントとして48時間半数影響濃度(48h EC50)を算出した。

また、現行のリスク評価手法においては、ミジンコ類およびユスリカ類を用いた毒性評価が行われており、既存の毒性データがある。そこで、近年使用量が増大しているネオニコチノイド系殺虫剤およびフィプロニル等に対する感受性が高いとされるユスリカ類と、ここで算出されたトンボ類2種のEC50を比較し、現行の評価システムがトンボ類に対して保護的であるか否か検討した。

④実環境に近い暴露影響評価試験法検討:

トンボ類が実環境において遭遇しうると考えられる暴露シナリオは、その期間や経路など多岐にわたるが、現行の生態リスク評価システムでは表層水からの急性暴露が評価されるのみにとどまっている。そこで、より実環境に即した影響評価を行うための新たな試験法の開発について検討を行った。

まず、より低濃度の薬剤に長期間暴露された場合の影響を調べるため、10日間に渡って脱皮までの期間を調べる亜急性影響試験を検討した。ここでは、現行の急性影響試験では評価が難しいIGR剤(Insect Growth Regulator=昆虫成長制御剤)のブプロフェジンおよびエトキサゾールを用いた。次に、餌の摂取が農薬影響の発現に及ぼす影響を調べるため、薬剤濃度は同じで餌の有無のみ異なる2区の間での影響試験を検討した。ここでは、餌なしでの影響試験の経験があるフィプロニルを用いた。最後に、簡易水田メソコズムを用い、半野外においてトンボ類に対する薬剤影響を評価する手法についても検討した。ここでは薬剤は殺虫剤フィプロニル、除草剤ペントキサゾンおよび両者の併用とし、7月から9月まで、2週間おきに6回、各処理区のトンボ幼虫生息状況を調査した。

(2) メソコズム試験による生態影響評価

水田生物多様性に対する農薬の生態影響に関する既存の研究は、生物に与える「直接的な影響」評価が中心であった。そのため、水田生態系において生物間相互作用を考慮して農薬の影響を評価、すなわち「間接的な影響」に着目した研究は未だ少ない。そこで、本サブテーマでは、殺虫剤が水田のトンボ目幼虫に与える直接的な影響にくわえ、除草剤がもたらす水草の減少を介した間接的な影響、そして殺虫剤と除草剤の複合的な影響の検出を、3年間にわたる水田メソコズム試験を通じて試みた。さらに発展として、農薬が水田の生物間相互作用に与える影響を明らかにするために、近年発展しつつある手法である非線形時系列解析(Empirical Dynamic Modeling:EDM)を用いた解析を試みた。

水田メソコズムによる生物群集に及ぼす殺虫剤・除草剤の単独及び複合生態影響の評価

農薬が水田生態系の生物多様性に与える直接的、または生物間相互作用を介した間接的な影響を評価するため、水田メソコズムを用いてトンボ目幼虫群集に着目した曝露実験を行った。試験薬剤は、わが国で一般的に使用される農薬のうち、除草剤はペントキサゾンを、殺虫剤はフィプロニルをそれぞれ選定した。殺虫剤はトンボ目幼虫を殺すことで直接的な負の影響を与える一方、除草剤はトンボ幼虫のハビタットとなる維管束植物を減少させることで間接的に影響を与えると予測される。この予測を検証するため、ペントキサゾンの有無とフィプロニルの有無を組み合わせた2×2=4処理の要因実験デザインを採用した。水田環境を模した8つの大型タンク(幅1.2 m×奥行2.8 m×高さ0.45 m)に上記の4処理をランダムに割り振り、数十年にわたり農薬の使用歴が確認されていない水田土壌をおのおの1 m³ずつ投入して、半止水式の人工水田を設計した。稲(ヒノヒカリ)移植の前後に農薬を散布したのち(フィプロニルは箱処理、ペントキサゾンは株移植直後に水和剤にて散布)、2週に1回の頻度で生物調査(維管束植物の被度、トンボ目幼虫数)を実施した。試験期間は当該地域(近畿圏)の農事暦を参考に、5月下旬から10月中旬までとし、生物調査は農薬散布後20週目まで行った。刈り取り後は田面水を抜き、翌年の湛水時期まで乾田化した。この操作を、2017年から2019年までの3年間連続して行い、上記測定項目に対するペントキサゾンおよびフィプロニルの効果を検証した。

①薬剤の環境中動態分析

水田における除草剤ペントキサゾンと殺虫剤フィプロニルの環境中動態を明らかにするため、薬剤の水中および土壌中の残留濃度を3年間モニタリングした。サンプリングは原則として、農薬施用開始から数えて7日前、2時間後、1日後、2日後、4日後、7日後、14日後、28日後、56日後、98日後、140日後

に行った。

②維管束植物を含めた群集動態解析

③殺虫剤・除草剤がトンボ目幼虫に与える単独及び複合的な影響

農薬散布が水田生物群集に与える影響を解析するため、各生物群の密度とトンボ目昆虫の密度について処理間比較した。水田生物を、捕食性昆虫・植食性昆虫・デトリタス食性昆虫・維管束植物・植物プランクトン・動物プランクトンの6つのグループに分け、それぞれの密度に対する農薬散布処理の影響を解析した。また、トンボ目幼虫を水草上で生活するイトトンボ亜目とヤンマ科、そして水底で生活するトンボ科の2つのグループに分け、これらトンボ類の密度に対する農薬処理の影響を解析した。

④殺虫剤・除草剤の長期連続施用が水田昆虫群集に与える影響

農薬の群集影響が年間で変動したかを検証するため、群集組成を処理間および年間で比較した。農薬と年の影響を精度高く検証するため、partial Redundancy Analysis (partial RDA)を用いて群集組成の年変動の影響を取り除いた。partial RDAにおいて年と農薬処理との交互作用が有意だった場合、農薬の群集影響に年変動があったと判定した。

⑤群集動態解析によるトンボ類影響評価法の開発

当該分野における既存の研究では、生物密度の増減の解析 (PRC (Principal Response Curve)等、群集組成の解析も含む) が中心であり、相互作用の強さを農薬がどのように変化させたのかを示した研究はほとんどない。この課題について、近年発展しつつある手法であるEDM (Empirical Dynamic Modeling: 時系列データ (生物の密度や気温の時系列変化) から系の挙動を再構成する手法)を用いて解析を試みた。水田生物を、水草上捕食性昆虫・水底捕食性昆虫・水面上捕食性昆虫・植食性昆虫・デトリタス食性昆虫・動物プランクトン・植物プランクトン・維管束植物の8つのグループに分類し、各生物群の時系列データを用いて生物間の相互作用強度の推定を行った。

(3) 野外調査による生態影響評価

①佐賀平野のクリークにおけるトンボ類および水生植物の生息調査:

佐賀平野におけるトンボ個体群の分布および動態を規定する要因を明らかにするため、10ヶ所の調査地においてルートセンサス法によりトンボ成虫の生息状況を調査した。また、タモ網を用いてヤゴ類の生息調査を実施した。加えて、これらの調査地における水質や水生植物の被度などを調査した。

②佐賀平野における過去のトンボ相および農薬資料履歴の調査:

佐賀平野における過去から現在にいたるトンボ相の変遷とその要因を明らかにするため、これまでのトンボの生息状況に関する文献を網羅的に調査するとともに、過去におけるトンボ類の目撃・採集記録を整理した。また、農薬出荷量に関するデータや防除暦などを参考に、佐賀平野の水田における農薬の使用履歴を調査した。

③調査地における農薬残留実態調査:

農薬が佐賀平野のトンボ類に及ぼす影響を明らかにするため、佐賀平野の10ヶ所の調査地において、水および底質に含まれる各種農薬の濃度を定量した。

④トンボ多様度規定要因の解析:

一連のデータを用いて、トンボの個体数の年差分や世代間差分に各種環境要因が及ぼす影響を解析した。また、地点間比較により、トンボ多様度に影響を及ぼす環境要因を抽出した。

(4) 生態影響の因果推論手法開発

①Hillの因果性基準の観点からの既往データの整理と総合的評価

国内外の既往データの収集と整理を行い、「1990年代のアカトンボ類の激減の要因はネオニコチノイド系農薬類である」という仮説に対してHillの因果性基準の観点から評価した。本研究では、Hill基準の9項目について、+/- 3段階でスコア付けすることで評価を行った。

②1989年以降の主要な箱施用農薬の用途別使用量の推定

谷地ほか (2016) の手法を用い、「農薬要覧」の都道府県別製剤別出荷量のデータおよび「農薬総覧」

等の適用一覧のデータから、水稻育苗箱施用農薬として用いられる殺虫剤原体の1989年から2017年までの用途別使用量（本田散布、育苗箱施用、航空散布、畑・果樹、その他）を都道府県ごとに推定した。

③北陸4県における2009-2016年の野外調査データを用いた殺虫剤の因果的影響の推定

北陸4県において2009年から2016年にかけて、自動車を用いたルートセンサスによって得られたアキアカネ成虫の個体数のモニタリングデータ（上田，未発表）を年次比較可能な形式に整理した。殺虫剤9剤の育苗箱普及率の変動とアキアカネ個体数との関係を、バックドア基準に基づき選択した交絡要因を組み入れた重回帰モデルで解析した。

④アキアカネ激滅に対する温暖化原因説の検証

アキアカネは夏季に冷涼な山地帯で越夏することが知られているため、地球温暖化がアキアカネ激滅の主要因のひとつとして指摘されることがある。そこで、過去の気象データから夏季の気温値を計算し、富山県のアキアカネの個体数データ（二橋，2012）との関連を解析した。具体的には、気温のトレンドと個体数の激滅のトレンドに整合性があるかを激滅前後での気温の差分等の指標を比較することにより検証した。

⑤個体群モデルによるアキアカネ激滅の評価

育苗箱施用の殺虫剤がアキアカネの個体群動態に与える因果的影響を推定するために、アキアカネの生活史特性を考慮した個体群モデルの開発を行った。開発した個体群モデルをもとに、仮想的にパラメータを変化させた一連のシミュレーションを行うことにより、アキアカネの激滅に対する殺虫剤や中干し等の各要因の寄与度を評価した。

（5）全国レベルのトンボ類分布実態調査

国立環境研究所、産業技術総合研究所、農研機構および日本トンボ学会が共同で整備している、日本全国のトンボ分布情報データベース（30万件以上）から、90年代以降の分布記録を抽出し、2次メッシュ（約100 km²）に統合・整形した。またトンボ類の地理分布に影響を与える要因として、気候、土地利用、水域環境、水草の多様性に関する地理情報を収集し、2次メッシュ単位で整備した。全国スケールでトンボ各種の分布並びに分布を規定する環境要因を推定するため、分布推定モデルの構築を開始した。多種の分布情報を用いて、種間の分布の類似性（同じ場所に出現しやすいか否か）に関するパラメータを推定可能なGeneralized Joint Attribute Model (GJAM)を用い、それぞれの種を独立に扱う従来型的手法（一般化線形モデルや、空間自己相関回帰）との比較を行った。

また、農薬原体の都道府県別出荷量と各農薬の使用形態（農薬要覧）を基とした都道府県用途別農薬使用量推定データを農研機構の永井博士より入手し整備した。そしてJAXAの高解像度衛星画像を基に、全国3次メッシュ（1 km²）単位の水田と畑の利用比率を算出し、3次メッシュ各地点における農薬使用量の推定を行い、農薬利用地図を整備した。

トンボに対する各農薬の急性毒性値を収集し、農薬利用地図を組み合わせて、全国レベルでのトンボに対する農薬ハザード地図を作成した。トンボ各種の水田依存度を文献より数値化し、トンボの予想分布域と農薬ハザード地図を重ね合わせ、水田におけるトンボ農薬リスクマップを作製した。

4. 結果及び考察

（1）生態リスク評価のための毒性試験高度化

①OECDテストガイドラインの見直し、問題点抽出：

農薬の水生節足動物に対するリスク評価は、従来行われてきたミジンコ類急性遊泳阻害試験に加え、種間差を考慮した評価を行うためにユスリカ類急性遊泳阻害試験が追加されることとなった。主なネオニコチノイド系殺虫剤やフィプロニルに対してユスリカ類はオオミジンコよりも高い感受性を示しており、ユスリカ類を追加したことで水生生物に対してより保護的な評価が可能になったと言える。

しかしながら、ユスリカ類を加えたリスク評価であっても、トンボ類の保全のためには不十分であると考えられた。その理由として、長期影響や脱皮・羽化への影響、また実環境で想定されるさまざまな暴露経路を介した影響が評価されていないことが挙げられる。よって、長期・脱皮影響試験や餌を介した

毒性試験、また底質添加毒性試験など、より多角的な影響評価を行うことが必要と考えられた。また、ビーカー内毒性試験と実環境をつなぐ半野外影響評価試験も、総合的なリスク評価を行う上で有用と考えられた。

②トンボ類試験個体の安定的供給システムの検討:

これまでの飼育法では大きめのバット（40cm×55cm×15cm）に500匹程度の孵化幼虫を入れて維持している。幼虫に対してはツボワムシ、タマミジンコを成長段階に応じて給餌し、成虫にはユスリカ成虫を与えている。現状での問題点として、給餌の労力、および餌生物の確保が挙げられる。幼虫は共食い傾向が強いことから、毎日十分量の餌を与えることが必要である。給餌については、定量送液ポンプ等を使用することで自動化することを検討する。ツボワムシとタマミジンコの飼育に関しても、同様に定量送液ポンプで自動的に餌のクロレラを供給することで、省力化が可能となる。また、成虫の餌に関しては、より生活史が短く飼育が容易な生物、例えばショウジョウバエ等を用いることで簡便化が可能となる。

③急性毒性試験による感受性比較:

表(1)-1の通り、アオモンイトトンボはアキアカネに比べ、薬剤感受性がやや高い傾向が示された。メソコズムを用いた先行研究においては、フィプロニル施用区においてアキアカネが減少しアオモンイトトンボが増加することが報告されているが、今回の結果はそれに反する。このことは、半野外試験で見られた上記のような現象は、トンボ自身の薬剤感受性の差異によるものではなく、卵・幼虫期間の長さや餌の種類、微小生息環境の違いなどの生態特性の差異によるものであることを示唆する。今回得られたトンボ類に対する急性影響濃度を、ユスリカの1種 *C. dilutus* に対する急性影響濃度 (Weston & Lydy, 2013) と比較すると、*C. dilutus*の方が感受性が高いことが示された。このことから、急性影響に関する限り、ユスリカ類を用いた評価はトンボ類に対しても保護的であると考えられた。ただし、急性影響のみの評価では野外トンボ類の保全には不十分と考えられることは上述の通りである。

④実環境に近い暴露影響評価試験法検討:

アキアカネ脱皮阻害試験の結果について、両薬剤とも無処理区に比べ処理区で2齢幼虫期間の延長が見られた(図(1)-1)。ただし、エトキサゾール50 $\mu\text{g/L}$ 区では3日目までに全個体が死亡したため図示していない。この方法を用い、標準的な2回目脱皮期間である6日目の脱皮率をエンドポイントとし、脱皮率に対するEC50を算出するといった形で薬剤の脱皮阻害を評価することが可能であると考えられた。また、10日間に渡って飼育を継続することができたことから、亜急性毒性試験についても同様に実施可能と考えられた。

アオモンイトトンボを用いた摂食の有無による農薬影響の違いに関する試験については、フィプロニル濃度1.25 $\mu\text{g/L}$ 区において餌の有無により影響率に差が見られた(図(1)-2)。この原因として餌生物体内に薬剤が取り込まれ、それを摂食したことによる影響が加わるためと推測された。このように成長期間の長いトンボ類については、餌を介した農薬の暴露影響も考慮する必要があることが示された。

簡易水田メソコズムでの調査においては、イトトンボ科およびトンボ科(種不明の1個体を除きウスバキトンボ)の幼虫の出現が観察された。イトトンボ科は比較的発生数が多く、簡易水田メソコズムを用いた影響評価を行う際の指標として最も有用と考えられた。隣接する他のメソコズム等ではギンヤンマ、ショウジョウトンボ、シオカラトンボなどの幼虫も確認されているが、簡易水田メソコズムでは観察されなかった。2017年度の試験においてはメソコズムの設置が2017年7月と遅かったため全体的に生物の発生量が少なかったが、2018年度は実水田の農作業スケジュールに合わせて設置し、農薬の生物群集影響について本格的に調査する予定である。

(2) メソコズム試験による生態影響評価

①薬剤の環境中動態分析

水中・土壌中とも、除草剤ペントキサゾンと殺虫剤フィプロニルの残留濃度の時間変化は、年間で

類似していた。具体的には、両剤とも水中では散布直後にピークをむかえ、その後速やかに検出限界以下 (0.1 ppb) まで低下した一方、土壌中では水中に比べ、残留濃度の低下速度はゆるやかだった。また、2年目以降 (2018年～) は土壌中から、両剤とも数ppb程度の濃度が検出されるなど、長期残留の実態が認められた。なお、ペントキサゾンの土壌における残留傾向は顕著でなかったが、フィプロニルは年を追うごとに、わずかながら増加する傾向にあった。

②維管束植物を含めた群集動態解析

捕食性昆虫については、調査3年目の2019年のみ有意ではなかったものの、すべての年でフィプロニル (殺虫剤) 処理による負の影響 (減少傾向) が認められた。他方で、ペントキサゾン (除草剤) によって捕食性昆虫が減少するような傾向は観察されなかった。維管束植物については、すべての年で除草剤による効果、すなわち植被の低下が観察されたが、2019年では除草剤の影響が顕著だったのは調査シーズン序盤のみで、シーズン後半にはその影響は小さくなった。動植物プランクトンについては、植物プランクトンが年を経るごとに減少傾向にあったものの、実験処理による一貫した密度変化は観察されなかった。その他の生物群 (植食性昆虫、デトリタス食性昆虫) では明確な農薬処理の効果は認められなかった。

これらの結果から、除草剤が捕食性昆虫に与える影響の主要な経路は、維管束植物の密度低下であることが示唆された。

③殺虫剤・除草剤がトンボ目幼虫に与える単独及び複合的な影響

水草上で生活するイトトンボ亜目とヤンマ科の幼虫については、2017年と2018年では、累積個体数がペントキサゾンの散布によって減少する傾向がみられた (図3)。これは、除草剤が水田内の維管束植物の密度を減少させたことで、これら植物の基質を生息場所とするイトトンボ亜目やヤンマ科の幼虫に間接的に影響したことが原因と考えられる。しかし、両年ともフィプロニル (殺虫剤) の存在下では累積個体数は著しく減少し、除草剤が累積個体数に与える影響は観察されなくなった (I vs. I+H)。2019年調査では農薬散布が累積個体数に与える影響は観察されなかったが、これは2019年において除草剤が維管束植物の密度に与える影響が、前年までに比べて小さかったことで説明できるかもしれない。

水底で生活するトンボ科幼虫については、年間で一貫した除草剤処理の影響は観察されなかった。これは、水草上で生活するトンボ目幼虫に対して、水底で生活するトンボ目幼虫の方が除草剤の負の影響を受ける可能性が小さいという予測と一致する結果である。くわえて、すべての年で殺虫剤処理の強い負の影響が観察された。これは、今回使用した殺虫剤フィプロニルが、トンボ目、特にショウジョウトンボなどのトンボ科の幼虫に甚大な影響を与えるという先行研究を追認する結果である。

全体として、1) 除草剤がトンボ目幼虫に与える間接的な影響は、存在はするが大きくはないこと、2) イトトンボ亜目の幼虫のように水草上で生活するグループの方が除草剤の影響を受けやすいこと、そして、3) すくなくとも殺虫剤フィプロニルの存在下では除草剤の間接影響は打ち消されてしまうこと、の3つが明らかとなった。

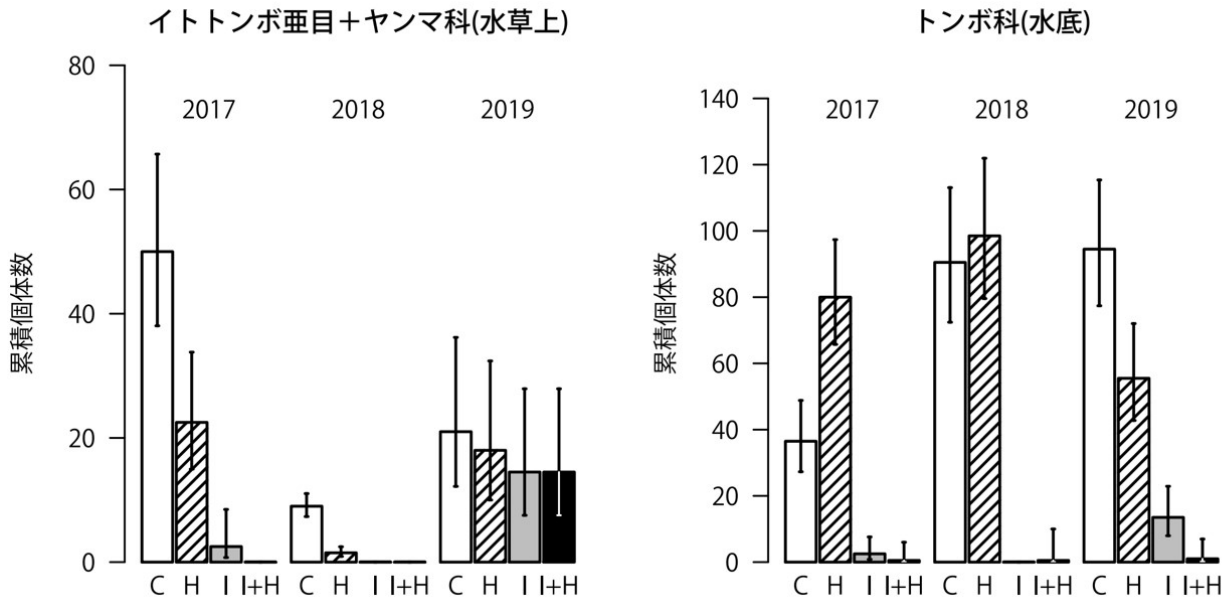


図3 イトトンボ亜目+ヤンマ科幼虫（水草上に生息）およびトンボ科幼虫（水底に生息）の累積個体数の処理間比較（最小二乗平均±SE）。

C:無処理区、H:除草剤処理、I:殺虫剤処理、I+H:殺虫剤+除草剤処理。

各調査日ごとの平均個体数ではなく、累積個体数データであることに注意。

④殺虫剤・除草剤の長期連続施用が水田昆虫群集に与える影響

RDA1軸に沿って殺虫剤の影響が、RDA2軸に沿って除草剤の影響が明瞭に表れた。除草剤の影響、殺虫剤の影響ともに、調査年によって大きさあるいは向きが変化したことがわかった。他方で、除草剤と殺虫剤の複合影響は、調査年間で有意な変化はなかった。

⑤群集動態解析によるトンボ類影響評価法の開発

2017年のデータを用いたモデルが、他の2年のモデルよりもやや予測性能に優れていることが観察された。これは、2018年や2019年において、イトトンボ亜目やトンボ科、植物プランクトンなど、密度の低い生物群が散見されたことと関連しているかもしれない。EDMの予測性能を維持するための最低限の情報をデータが持っていなかった可能性が考えられる。次に、予測性能に優れていた2017年のEDMモデルを用いて、水田内の生物間相互作用ネットワークの再構成を試みた。その結果、矢印の正負の入れ替わりは、対照区 vs. 除草剤区で1/12、対照区 vs. 殺虫剤区で3/7、対照区 vs. 殺虫剤+除草剤区で1/7となり、相互作用の正負が入れ替わってしまうような大きな変化は、農薬散布処理で起こらなかったことが示唆された。さらに、トンボ類（水草上捕食者および水底捕食者）に直接つながる矢印に正負の入れ替わりは起こらなかった。

全体として、農薬施用が水田生物間相互作用の正負と強度に与える影響は小さいことが示唆された。EDMによって水田の生物間相互作用ネットワークの詳細を推定することが可能なことが示され、農薬の群集影響評価において注目すべき新たな手法であると考えられた。今後の手法の改良が期待される。

(3) 野外調査による生態影響評価

一連の調査により、佐賀平野では2000年からの約15年間の間に、キイロサナエ、コヤマトンボ、マユタテアカネなどが有意に減少し、コオニヤンマ、オオシオカラトンボなどが増加したことが判明した。また、調査地の1つである横武クリーク公園では、2000年以前には5種のイトトンボ科が確認されていたが、近年の調査ではアオモンイトトンボとアジアイトトンボのみしか確認されなかった。ヤゴの調査

では、周囲に水田が少ない調査地ほどイトトンボ科が多く確認され、成虫の調査ではイトトンボ科の種数と調査地の水生植物の被度との間に有意な正の相関が認められた。底質中の農薬分析では、周囲に水田が多い地点ほどフィプロニルの代謝産物が多く確認される傾向が見られた。

全ての調査地で確認されたアオモンイトトンボに関して、春世代と秋世代の対数差分に影響する要因に関して解析した結果、同一年内の春世代と秋世代の差分（図4）および秋世代と翌春世代の差分（図(3)-1B）のどちらも、フィプロニルおよびその代謝産物の濃度のみが有意に影響していた。本種の個体数は春には地点間で顕著に異なるものの秋にはおそらく地点間の移動が生じるため、その差が不明瞭になる。フィプロニルおよびその代謝産物の濃度が高い場所ほど、秋から翌春にかけての生存率が低いものと考えられた。

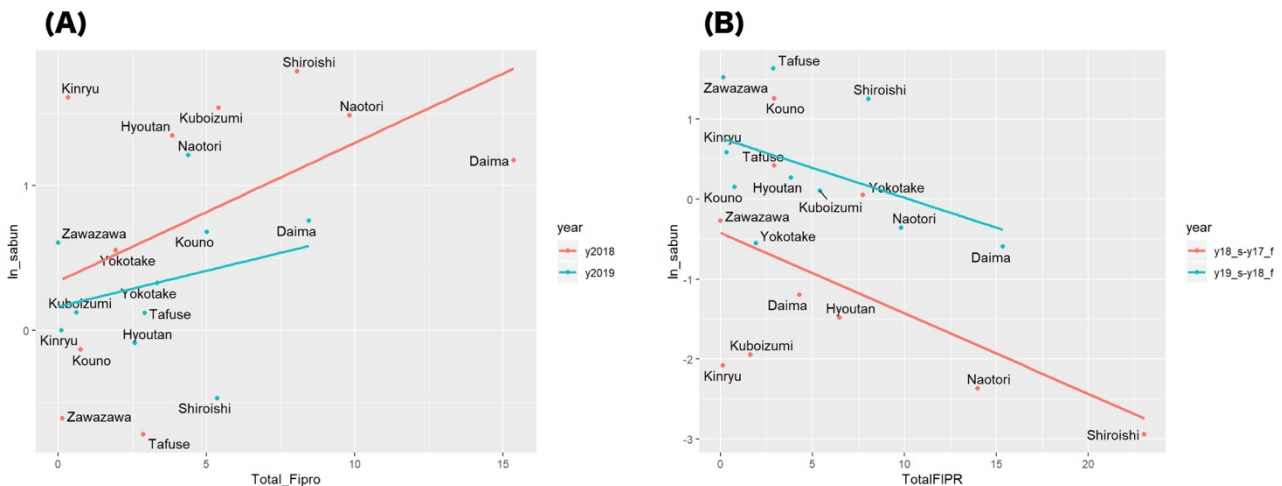


図4 各調査地における2018年および2019年の底質中のフィプロニルおよびその代謝産物濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）とアオモンイトトンボの世代間対数差分（A: 秋世代—春世代、B: 翌春世代—秋世代）の関係

他のトンボ類に関しては、年差分や世代間差分の解析では有意な要因はほとんど検出されなかったが、地点間比較の結果、ベニイトトンボやチョウトンボ、マユタテアカネにはフィプロニルおよび代謝産物濃度が負の影響を及ぼしていた。一方、タイワンウチワヤンマ、ギンヤンマ、オオヤマトンボ、コシアキトンボ、コフキトンボなどには水生植物の被度が負の影響を及ぼしていたのに対し、フィプロニルおよび代謝産物濃度の有意な影響は検出されなかった。以上より、フィプロニルおよびその代謝産物がトンボ類に及ぼす影響は種によって異なっており、アオモンイトトンボやベニイトトンボやチョウトンボ、マユタテアカネなどにはフィプロニルおよびその代謝産物が負の影響を及ぼしていると考えられた。

（4）生態影響の因果推論手法開発

①Hi11の因果性基準の観点からの既往データの整理と総合的評価

トンボ類およびその他水生生物に対するネオニコチノイド系農薬類の影響に関する文献123件を収集・整理し、そこから得られた知見をもとにネオニコチノイド系農薬類の因果的影響の強さについてHi11の因果性基準（9軸）に基づきスコア付けを行った。その結果、すべての軸について「ネオニコチノイド系農薬がトンボの激減を引き起こした原因である」という仮説を支持する証拠が得られ、反証は見出されなかった。以上のことから、ネオニコチノイド系農薬類の育苗箱施用が近年のアカネ減少の主要な要因の1つであった可能性は非常に高いと評価された。

②1989年以降の主要な育苗箱施用農薬の県別用途別使用量の推定

殺虫剤9剤についての使用量推定を都道府県ごとに行った。富山県では、イミダクロプリドは1993年、フィプロニルは1996年から出荷され、その後特にフィプロニルの普及率が急増した。2000年代以降はジノテフランやクロチアニジンなどの普及率も増加した。フィプロニルの普及率は2000年代後半から減少したが、イミダクロプリドは2000年代後半から再び増加した。2010年代はイミダクロプリドに次いでク

ロラントラニリプロールが主要な剤であることがわかった。

③北陸4県における2009-2015年の野外調査データを用いた殺虫剤の因果的影響の推定

北陸4県における2009年から2015年の殺虫剤9種の育苗箱施用普及率の年差分とアキアカネ個体数の年増加率との関係を、交絡要因を調整した上で重回帰分析を行った結果、殺虫剤使用の指標として「殺虫剤全体の普及率の総和」がアキアカネの個体群増加率を有意に低下させていることが示された（図5の右図；図中のP値は重回帰分析によるもの）。

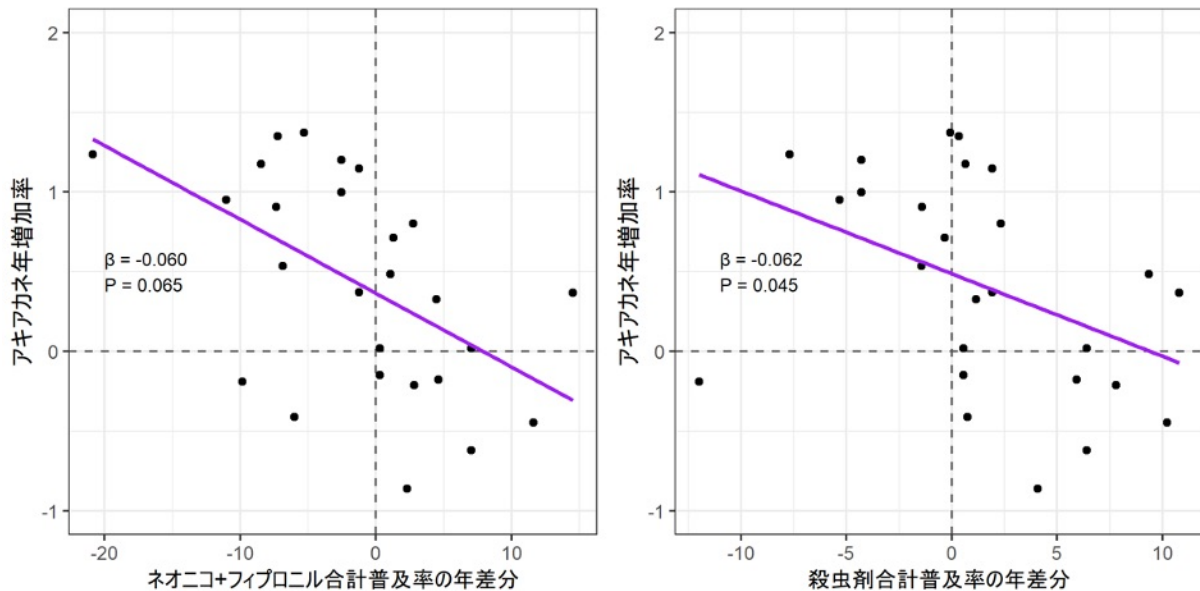


図5 北陸4県における殺虫剤の育苗箱施用普及率とアキアカネ増加率との関係

④アキアカネ激減に対する地球温暖化原因説の検証

アキアカネが激減した1990年代の気温の上昇は年次変動幅の範囲内であり、アキアカネ個体群の減少パターンとは関連がみられなかった。一方、回帰分析の結果からは、気温と個体群動態との間に負の相関がみられた。しかし、温度影響のみを考慮した簡易モデルによる数値計算の結果は、実際の観測結果からは大きく乖離し、気温の影響だけでは個体群の激減を再現できなかった。そのため、地球温暖化による気温の変化は1990年代のアキアカネの激減の主要因とは考えられないと結論した。

⑤個体群モデルを用いたアキアカネ激減の要因解析

個体群モデルを用いたシミュレーションを行い、各要因の及ぼす影響を定量的に評価した。まず、育苗箱施用殺虫剤による死亡率がもし実際よりも1/4または1/8ほど低かった場合を想定したシミュレーションを行ったところ、その程度の低毒性であった場合には90年代でのアキアカネの激減は生じない（概ね半減程度の減少にとどまる）という結果が示された。また、卵～羽化期死亡の大きな上昇の原因となる中干し・乾田化と強く関連する圃場整備率のパラメータについて過去のパラメータ値を用いてシミュレーションを行ったところ、圃場整備率が1980年代以前の水準である場合には、90年代のアキアカネの激減は生じないという結果が示された。これらの結果から、90年代のアキアカネの激減は、(1) 90年代以降に普及した育苗箱施用殺虫剤の強い毒性に起因する卵～羽化期死亡率の上昇と、(2) 90年代までの圃場整備事業等により促進された中干し・乾田化等に起因する卵～羽化期死亡率の上昇、の2つの要因の組み合わせにより生じたことが示唆された。

(5) 全国レベルのトンボ類分布実態調査

トンボ分布情報データベースより、日本産トンボ類196種の2次メッシュごとの出現地図を作製し、分布情報をえた196種のうち2次メッシュにおいて20以上の出現記録がある135種を対象として分布に対する環境要因の影響をGJAMによって解析した。その結果、トンボ類の分布には平均気温や森林面積が大きな影響をもっていることが示された。またGJAMによって構築された分布推定モデルと、従来型の一般化線

形モデル (GLM) および空間自己相関モデル (CAR) との間でAUC値を基に予測力の比較をおこなったところ、GJAMモデルは、従来型のモデルと同等以上の精度を持つことが示された。

1 km²メッシュ毎の推定農薬利用地図を解析した所、殺菌剤は東北地方で、除草剤は比較的普遍的に、殺虫剤は南方ほど多く使用されている実態が浮かび上がった。1995-2010年におけるネオニコ農薬の使用傾向を見ると、南から北へ順次使用が開始された事が確認された。

サブ1などから得られたアキアカネ・アオモンイトトンボを対象とした主要7系統15剤の急性毒性値を1 km²メッシュ毎の推定農薬利用地図に組み合わせて、農薬ハザードマップを作製し、文献調査から得られたトンボ各種の水田依存度と予測分布図を用いて、トンボ農薬リスクマップを作製した (図6)。アキアカネは全国的に分布するが、ネオニコチノイド系農薬の使用は南西に行くほど高いため、新潟から北陸にかけての日本海側、関東地方内陸部、そして九州が高リスク地域と判定された。一方でアオモンイトトンボは関東以西に分布するため、高リスク地域は関東内陸部や九州に限られた。15剤すべてを考慮した場合、アキアカネは新潟から北陸、そして関東内陸部が、アオモンイトトンボでは北陸と九州が高リスク地域と判定され違いがみられた。これはトンボの種類によって分布、農薬への毒性値が異なることに起因すると考えられ、本成果をもとにした他のトンボ種への拡張が必要である事を示唆する。今後トンボ分布モデルの結果を用いて日本各地におけるアキアカネ減少開始時期などを精査する事で、ネオニコなどがアキアカネ減少の引き金となっていたのかの検証などが可能であると考えられる。

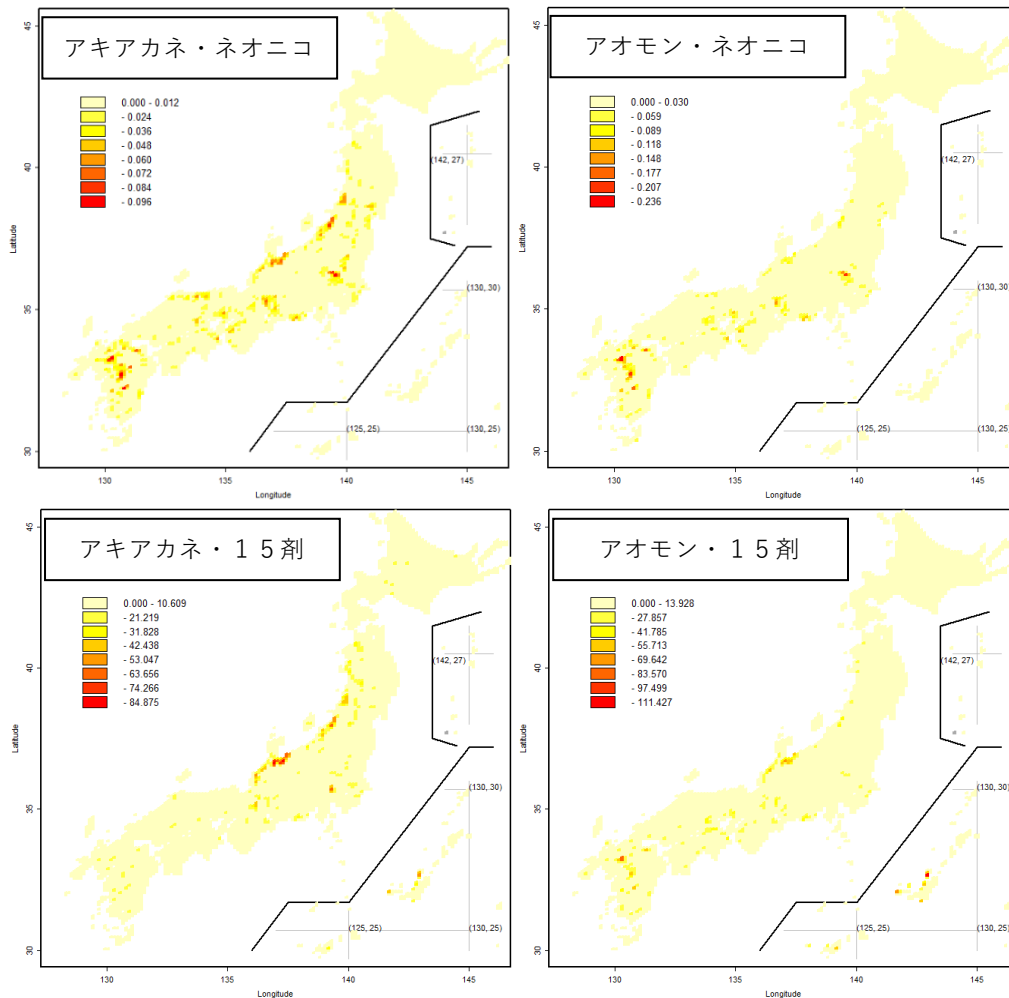


図6 アキアカネ (左) そしてアオモンイトトンボ (右) に対する、ネオニコチノイド (上段) と主要7系統15剤全体 (下段) が与える農薬リスク

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

(サブテーマ1) 従来の室内毒性試験で得られた毒性値に基づくリスク評価が実際の環境中における影響実態から乖離していることを生態学的に明らかにして、生態学的視点に基づく生態リスク評価・影響評価の重要性を示した。

(サブテーマ2) 本研究の科学的意義は、これまで農薬の直接毒性に比べて注目されていなかった、生物間相互作用を介した農薬の「間接影響」に着目した点である。特に、水草の減少を介した除草剤の昆虫に対する間接影響が、「昆虫のハビタット選好性に左右される」ことを示した研究は、世界でこれが初めてであり、科学的意義は大きい。また、フィプロニルのような強い直接毒性を持つ殺虫剤の存在下では、除草剤の間接影響は打ち消されてしまうことも、複数種の農薬がもたらす複合影響の理解を促進する知見と考えられる。

(サブテーマ3) 農薬がトンボ類に与える影響に関して、とくにフィプロニルとその代謝産物がトンボ類に負の影響を与えていること、その影響の強さはトンボの種により異なることが明らかになった。アオモンイトトンボでは、フィプロニルおよびその代謝産物濃度のみが世代間差分に有意な影響を及ぼしていた。また、全国的に減少が報告されているアカネ属のマユタテアカネに関しても、地点間比較により、フィプロニルおよびその代謝産物濃度が有意な負の影響を及ぼしていた。

(サブテーマ4) 既往の知見をHillの因果性基準に基づくスコアリングによって評価したことで、ネオニコチノイド系農薬がトンボ類の激減の主要な要因である可能性が非常に高いことが示された。また、都道府県別の用途別農薬使用量と野外モニタリングデータから、農薬の使用がトンボ個体群の減少を引き起こしたことを統計的に示した。さらに、個体群モデルを用いたシミュレーションにより、90年代のアカカネの激減は育苗箱施用殺虫剤と乾田化・中干し等の組み合わせによって生じたことが示唆された。これらの因果推論手法の開発・応用により、農薬が生態系に与える因果的影響を分析するための総合的方法論が提供された。

(サブテーマ5) トンボ類の分布には農薬利用以外にも、気候要因や森林面積などの土地利用が影響を与えることが明らかになった。これらの諸要因を同時に考慮することで、注目する農薬以外の環境要因が異なる地域間であっても相互に比較可能な評価モデルを構築することができると考えられる。また、景観中の推定農薬使用量や農薬生態リスクの可視化は、実環境での農薬影響評価を可能にするため、野外における農薬影響評価において重要なツールとなり得る。本成果は従来の室内毒性試験や水田メソコズムで得られた農薬リスク評価を、全国スケールの環境中における農薬使用量とトンボ分布予測そして毒性試験結果を組み合わせることで、景観中の農薬生態リスクの可視化を行い、実環境での農薬影響評価への道筋をつけたといえる。今後は、野外データによる検証や本成果をもとにした他のトンボ種への拡張を通じて、より現実に即した多様性影響評価が必要である。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

課題代表の五箇が座長を務める環境省「平成29年度農薬の昆虫類への影響に関する検討会」において、トンボ類の毒性データおよび野生個体群の動態データを提供し、農薬による影響評価および政策の検討に貢献した。

課題代表の五箇が座長を務める環境省「平成29年度水産動植物登録保留基準の運用・高度化検討会」においてトンボ類の毒性データ・メソコズム試験データに基づき、水生生物種の生活史を考慮した慢性（長期暴露）影響評価の必要性を議論した。

<行政が活用することが見込まれる成果>

(サブ1) アオモンイトトンボの累代飼育装置は、本種を長期暴露（慢性毒性）試験に実用する際には、試験生物供給システムとして活用が見込まれる。

(サブ2) 農薬の間接影響が生物の生活史形質（例：ハビタット選好性）に左右されるという知見

は、農薬の間接影響に対する個々の生物のリスクを生活史形質によって推定可能であることを示唆している。より精度の高いリスク予測には、今後も同様の科学的知見を蓄積することが必要となるだろう。

(サブ3) 世代間の個体数対数差分および年次間の個体数対数差分を用いた解析法は、地点間で異なる様々な交絡要因の影響を限りなく排除した解析であり、特定の環境要因が生物種の密度や多様度に及ぼす影響を解析する上で有用であると考えられる。

(サブ4) Hillの因果性基準を援用した既往知見の分析法は、様々な種類の科学的知見を統一的な枠組みを用いて分析することを可能とするため、特定の環境要因が生物集団の増減にもたらす因果的な影響を総合的に評価する上で有用である。

(サブ5) 農薬使用量地図はトンボのみならず、野生ハチやほかの昆虫ひいては鳥類など他の生物に対する農薬影響評価に利用することが可能である。すでに平成30年度並びに令和元年度環境省請負業務「農薬の花粉媒介昆虫に対する環境影響調査業務」において野生ハチへの農薬曝露量の評価に利用されている。

6. 研究成果の主な発表状況

(以下、3年間の該当成果を記入願います)

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) Sugital N, Agemori H and Goka K (2018) Acute toxicity of neonicotinoids and some insecticides to first instar nymphs of a non-target damselfly, *Ischnura senegalensis* (Odonata: Coenagrionidae), in Japanese paddy fields. *Appl. Entomol. Zool.*, <https://doi.org/10.1007/s13355-018-0583-7>
- 2) Furihata S, Kasaia A, Hidaka K, Ikegami M, Ohnishi H & Goka K (2019) Ecological risks of insecticide contamination in water and sediment around off-farm irrigated rice paddy fields. *Environmental Pollution* (印刷中)
- 3) Hayasaka D, Kobashi K and Hashimoto K (2019) Community responses of aquatic insects in paddy mesocosms to repeated exposures of the neonicotinoids imidacloprid and dinotefuran. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 175: 272-281.
- 4) Hashimoto K, Eguchi Y, Oishi H, Tazunoki Y, Tokuda M, Sanchez-Bayo F, Goka K and Hayasaka D (2019) Effects of a herbicide on paddy predatory insects depend on their microhabitat use and an insecticide application. *Ecological Applications* 29: e01945.
- 5) Hashimoto K, Kasai A, Hayasaka D, Goka K and Hayashi TI (2020) Long-term monitoring reveals among-year consistency in the ecological impacts of insecticides on animal communities in paddies. *Ecological Indicators* 113: 106227.
- 6) Kita A, Nakahara M and Tokuda M (2020) Changes in Odonata abundance between 2000 and 2015-16 in Saga Plain, northern Kyushu, Japan. *Journal of Insect Conservation* (in press)

(2) 主な口頭発表 (学会等)

- 1) 大石寛貴・喜多章仁・徳田誠：2017年度日本トンボ学会大会 (2017)
佐賀平野の止水域におけるトンボ相の地点間比較

- 2) 降幡駿介・今野文・五箇公一：第62回日本応用動物昆虫学会大会（2018）
トンボ類幼虫における殺虫剤感受性の種間差
- 3) 角谷拓：第65回日本生態学会大会（2018）
環境変動に対する多種間相関をもつ群集の応答：水生生物群集を事例に
- 4) 橋本洸哉・笠井 敦・林 岳彦・五箇公一・早坂大亮：第44回日本農薬学会大会（2019）農薬が
水田動物群集におよぼす効果の年間比較と感受性指標種の抽出の試み
- 5) 池上真木彦・五箇公一：第66回日本生態学会大会（2019）
生物季節観測データを用いた、アキアカネをはじめとする生物相の経年変化分析
- 6) 池上真木彦・五箇公一：第63回日本応用動物昆虫学会大会（2019）
長期生物季節観測データから読み解くアキアカネの減少

7. 研究者略歴

研究代表者

五箇 公一

京都大学大学院農学研究科修了、農学博士、現在、国立環境研究所室長

研究分担者

1) 早坂 大亮

横浜国立大学大学院環境情報学府環境生命学専攻修了、博士（学術）、現在、近畿大学農学部准教授

2) 徳田 誠

九州大学大学院生物資源環境科学府博士課程修了、博士（農学）（九州大学）、日本学術振興会特別研究員PD（研究従事機関：産業技術総合研究所）、理化学研究所基礎科学特別研究員、九州大学高等教育開発推進センター助教、現在、佐賀大学農学部准教授

3) 林 岳彦

東北大学大学院理学研究科卒業、理学博士、現在、国立環境研究所主任研究員

4) 横溝 裕行

九州大学大学院理学府生物科学専攻卒業、理学博士、現在、国立環境研究所主任研究員

5) 角谷 拓

東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程修了、博士（農学）、現在、国立環境研究所室長

6) 池上真木彦

ユトレヒト大学理学研究科博士課程修了、PhD、現在、国立環境研究所研究員

II. 成果の詳細

II-1 生態リスク評価のための毒性試験高度化

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 生態リスク評価・対策研究室 五箇公一

平成29～令和元年度研究経費（累計額）：38,350千円（研究経費は間接経費を含む）
（平成29年度：13,000千円、平成30年度：12,350千円、令和元年度：13,000千円）

[要旨]

近年、全国的なトンボ類減少が注目され、ネオニコチノイド系農薬などの関与が疑われているが、トンボ類に対する農薬の毒性データは十分に揃っておらず、正確な暴露評価をすることが難しかった。そこで本サブテーマでは、以下の課題に取り組んだ。

- ① OECDテストガイドラインにおける生態学的問題点を抽出し、整理する
- ② トンボ類試験個体の安定的供給システムの検討
- ③ トンボ類の急性毒性試験による感受性比較
- ④ 実環境に近い暴露影響評価試験法検討

以上の研究データに基づき、農薬による野生トンボ類の生態影響を評価するとともに、サブテーマ2および3で得られる影響実態の機構を解明した。またイトトンボを試験生物として安定供給するための飼育システムを確立してマニュアル化した。

[キーワード]

浸透移行性殺虫剤、毒性試験、慢性毒性、アキアカネ、イトトンボ

1. はじめに

現在の農薬取締法において農薬の水生生物リスク評価は、OECDテストガイドラインに準拠し魚類急性毒性試験、ミジンコ類急性遊泳阻害試験、藻類生長阻害試験の結果をもとに行うこととなっている。また、薬剤感受性の種間差を考慮した評価を行う観点から、新たにユスリカ類急性遊泳阻害試験が追加されることとなった。これらはそれぞれ高次捕食者、低次捕食者、生産者の代表とされ、これらに対する影響の少ない剤は生態リスクが低いという前提が置かれている。しかしながら、実際の生態系はより複雑な構造をしており、様々な種によって構成され、上記の試験生物の毒性データのみで生態系に対する影響を評価することは現実性に欠ける。

特に近年、ネオニコチノイド系殺虫剤やフィプロニルなどの新型の浸透移行性殺虫剤は、試験生物を用いた従来の生態リスク評価では、概ねどの剤も毒性が低く、環境中予測濃度も十分に低いことから、生態系に対するリスクが低い剤であると評価され、水田でも多用されているが、本系統剤の使用されるようになってから野生のトンボ類が減少しているとの報告がなされており、実際にメソコズム試験においても、トンボ類の発生に悪影響があることが示されている¹⁾²⁾³⁾。その背景にはトンボという昆虫が水中の底質上に生息し、ミジンコなどの動物プランクトンを捕食しながら、1ヶ月以上の期間を経て成長して羽化するという生活史を辿ることから、水、土壌および餌生物を介した農薬の長期暴露を受けるため、低濃度でもその成長に影響して、羽化数の減少につながる可能性が考えられる。

しかしながら、トンボ類の急性毒性・慢性毒性データは不足しており、影響メカニズムを検証することが困難とされる。

2. 研究開発目的

そこで本サブテーマでは以下の課題に取り組み、主に浸透移行性殺虫剤がトンボ類に及ぼす生態リスク評価を行うこととした。また得られたデータをもとに、サブテーマ2および3の結果と照合して、野外における影響メカニズムについて考察することとした。

- ⑤ OECDテストガイドラインにおける生態学的問題点を抽出し、整理する
- ⑥ トンボ類試験個体の安定的供給システムの検討
- ⑦ トンボ類の急性毒性試験による感受性比較
- ⑧ 実環境に近い暴露影響評価試験法検討

3. 研究開発方法

①OECDテストガイドラインの見直し、問題点抽出:

現在の農薬取締法において農薬の水生生物リスク評価は、OECDテストガイドラインに準拠し魚類急性毒性試験、ミジンコ類急性遊泳阻害試験、藻類生長阻害試験の結果をもとに行うこととなっている。また、薬剤感受性の種間差を考慮した評価を行う観点から、新たにユスリカ類急性遊泳阻害試験が追加されることとなった。これらはそれぞれ高次捕食者、低次捕食者、生産者の代表とされ、これらに対する影響の少ない剤は生態リスクが低いという前提が置かれている。しかしながら、こうした仮定および現行のリスク評価システムの不備や綻びについても様々な角度から指摘されている。そこで、特に節足動物に焦点を当て、OECDテストガイドラインに準拠したリスク評価の問題点について改めて整理した。

②トンボ類試験個体の安定的供給システムの検討:

トンボ類幼虫を用いたリスク評価手法を確立する上では、供試昆虫の安定的な確保が重要である。そこで、既に国立環境研究所でマニュアル化されているアオモンイトトンボの累代飼育法を見直し、現行の飼育方法およびその問題点を明確にするとともに、問題点の改善案について検討を行った。

③急性毒性試験による感受性比較:

我が国には200種を超えるトンボ目昆虫が生息することから、その中でも種によって薬剤感受性に差があることが想定され、実際にそれを示唆する報告もある。そこで、水田周辺水域で見られる代表的なトンボ種であり、均翅亜目と不均翅亜目というトンボ目の中の主要な2亜目に属するアオモンイトトンボおよびアキアカネを試験生物として選定し、感受性の比較を行った。両種の孵化幼虫を用いて、フェニルピラゾール系殺虫剤であるフィプロニルおよびその分解産物3種（フィプロニルスルホン、フィプロニルスルフィド、およびフィプロニルデスルフィニル）、およびエチプロールに対する急性毒性試験を行い、遊泳阻害をエンドポイントとして48時間半数影響濃度（48h EC50）を算出した。

また、現行のリスク評価手法においては、ミジンコ類およびユスリカ類を用いた毒性評価が行われており、既存の毒性データがある。そこで、近年使用量が増大しているネオニコチノイド系殺虫剤およびフィプロニル等に対する感受性が高いとされるユスリカ類と、ここで算出されたトンボ類2種のEC50を比較し、現行の評価システムがトンボ類に対して保護的であるか否か検討した。

④実環境に近い暴露影響評価試験法検討:

トンボ類が実環境において遭遇しうると考えられる暴露シナリオは、その期間や経路など多岐にわたるが、現行の生態リスク評価システムでは表層水からの急性暴露が評価されるのみにとどまっている。そこで、より実環境に即した影響評価を行うための新たな試験法の開発について検討を行った。

④-1 長期暴露試験（慢性毒性試験）まず、より低濃度の薬剤に長期間暴露された場合の影響を調べるため、10日間に渡って脱皮までの期間を調べる亜急性影響試験を実施した。ここでは、現行の急性影響試験では評価が難しいIGR剤（Insect Growth Regulator=昆虫成長制御剤）のブプロフェジンおよびエトキサゾールを用いた。さらに4週間にわたって成長を調べる長期暴露影響試験を実施した。ここでは、急性毒性試験と比較するためイミダクロプリドおよびフィプロニルを用いた（表3.1.1）。

飼育法により得られたアオモンイトトンボの卵を25℃環境下で維持し、孵化後48時間以内の幼虫を供試虫とした。脱塩素化し水温を調節した水道水を用いて農薬原体を規定濃度まで希釈し、試験溶液とした。試験方式は、農薬暴露開始から24時間毎に毎日試験水を交換する半止水式とした。試験期間は4週間とし、溶液20 mLに対しアオモンイトトンボの幼虫を1匹導入して25℃、16L8D下で維持し、24時間ごとに生死・遊泳などへの影響の有無および脱皮の有無を実体顕微鏡下で確認した。

供試個体は複数腹の卵を混ぜて、各濃度区に10個体、コントロール1と2にそれぞれ10個体を使用し、反復は1回のみとした。死亡個体および生きている（体内の流動や体の痙攣などが見られる）がパスツールピペットによる尾鰓への刺激（10回）を受けても脚の関節を動かさない個体を影響個体とした。また脱皮殻の有無により、24時間以内の脱皮有無を確認した。溶液に触れる使用器材はすべてガラス製を用いた。

薬剤の種類とその濃度毎に、死亡個体数、影響個体数および脱皮個体数の経時的な変化を調査した。また影響個体と薬剤の有無及びその濃度の関係を一般化線形モデル（GLM）により解析し、4週間後の半数影響濃度（4wk EC50）を算出し、急性毒性試験結果（48時間後半数影響濃度；48h EC50）などと比較した。さらに脱皮の失敗や奇形などの特徴的な異常を確認した際には、写真撮影により記録した。試験期間終了時に生存している個体は記録としてエタノールで固定・保管し、体サイズを測定して処理区間で比較した。

表3.1.1 急性毒性試験と慢性毒性試験の仕様比較

	急性毒性試験（H27 実施）	慢性毒性試験
薬剤暴露期間	48 時間	4 週間
基質	水 10 ml	水 20 ml
イミダクロプリド 供試濃度(ppb)	1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0	2.5, 5.0, 10, 20
フィプロニル 供試濃度(ppb)	0.50, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0	0.25, 0.50, 1.0
1 処理区あたり 供試個体数	5	10
反復数	3	1
試験水交換	24 時間毎	24 時間毎
エンドポイント	遊泳	遊泳
餌生物の有無	無し	有り（ツボワムシ）

④-2 給餌影響試験 次に、餌の摂取が農薬影響の発現に及ぼす影響を調べるため、薬剤濃度は同じで餌（オオミジンコ幼体）の有無のみ異なる2区の間での影響試験を検討した。ここでは、餌なしでの影響試験の経験があるフィプロニルを用いた。濃度区は0.625、1.25、2.50ug/Lとし、試験時間、試験飼育水量、および交換時間は上記の急性毒性試験と同じ条件で行った。給餌区では試験開始時にオオミジンコ幼体をトンボ幼虫一匹につき10個体を試験水に加えた。

④-3 簡易メソコズム試験 最後に、簡易水田メソコズム（図3.1.1）を用い、半野外においてトンボ類に対する薬剤影響を評価する手法についても検討した。殺虫剤フィプロニル単剤施用（箱苗施用）、除草剤ペントキサゾン単剤（水和剤）施用および両剤の併用の3区を試験区とし、2018年7月から9月まで、2週間おきに6回、各処理区のトンボ幼虫生息状況を調査した。

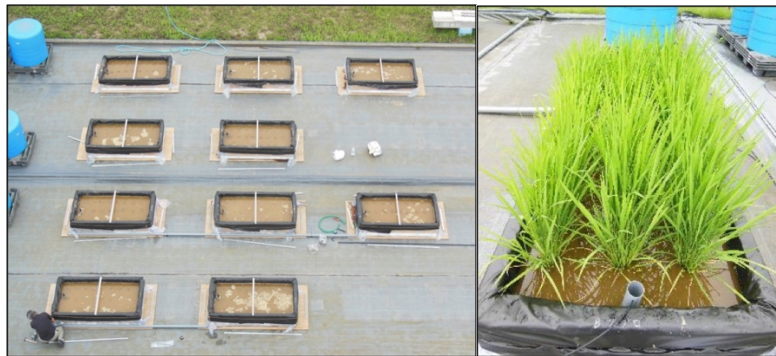


図3.1.1. 簡易メソコズム
水田サイズは1.5×1メートル

4. 結果及び考察

①OECDテストガイドラインの見直し、問題点抽出：

農薬の水生節足動物に対するリスク評価は、従来行われてきたミジンコ類急性遊泳阻害試験に加え、種間差を考慮した評価を行うためにユスリカ類急性遊泳阻害試験が追加されることとなった。主なネオニコチノイド系殺虫剤やフィプロニルに対してユスリカ類はオオミジンコよりも高い感受性を示しており、ユスリカ類を追加したことで水生生物に対してより保護的な評価が可能になったと言える。

しかしながら、ユスリカ類を加えたリスク評価であっても、トンボ類の保全のためには不十分であると考えられた。その理由として、長期影響や脱皮・羽化への影響、また実環境で想定されるさまざまな暴露経路を介した影響が評価されていないことが挙げられる。よって、長期・脱皮影響試験や餌を介した毒性試験、また底質添加毒性試験など、より多角的な影響評価を行うことが必要と考えられた。また、ビーカー内毒性試験と実環境をつなぐ半野外影響評価試験も、総合的なリスク評価を行う上で有用と考えられた。

(1) 現状

○農薬登録の対象となる農薬全てについて、水域生態系における生産者を代表する藻類等、一次消費者を代表する甲殻類等及び二次消費者を代表する魚類の3生物群について、これら生物を代替又は生物群の代表的な種に係る短期（急性）影響評価を行うことにより、登録保留基準を設定。

○具体的には、必須の試験として、魚類急性毒性試験、ミジンコ類急性遊泳阻害試験、藻類生長阻害試験、殺虫剤についてはユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験が求められ、試験から得られた急性影響濃度をもとに生物種間差を考慮して水産動植物登録保留基準が策定される。

○これらの試験の期間は2～4日の間であり、このいずれかの日数を評価期間として算定される水産動植物被害予測（短期水産PEC）については、

- ・使用用途を大きく水田又は非水田に分け、農地に散布される最大散布量を基に、モデル等を用いて算出。

- ・また、リスク評価においては、水産動植物登録保留基準との比較結果から、Tier制の下で短期水産PECを精緻化している。

○なお、申請者には、急性生態影響試験データの他、関連する試験データとして、加水分解性、水中光分解性、土壌残留性等の提出が求められている。

(2) 課題

○現行の農薬の急性影響濃度をもとにした評価制度では、長期に渡る農薬の水産動植物への影響を加味した評価が行われていない。

○水域生態系に人間活動が及ぼす影響から農薬によるものだけを分離して評価することは困難※であり、これは影響の長期・短期を問わず同様だが、環境省がこれまでに実施したモニタリング調査において農薬散布後数ヶ月経ても公共用水域の水質や底質に残留している農薬が存在することが明らかになっ

ている他、物理化学特性として加水分解しない農薬や、土壌残留性試験で1年程度経た後も検出される農薬もある等、自然水域での状況によっては長期に亘り検出される農薬の存在も否定できない。

②トンボ類試験個体の安定的供給システムの検討:

これまでの飼育法では大きめのバット（40cm×55cm×15cm）に500匹程度の孵化幼虫を入れて維持している。幼虫に対してはツボワムシ、タマミジンコを成長段階に応じて給餌し、成虫にはユスリカ成虫を与えている。

現状での問題点として、給餌の労力、および餌生物の確保が挙げられる。幼虫は共食い傾向が強いことから、1日も欠かさず十分量の餌を与えることが必要である。そこで本課題では、これらの問題点を自動化によって解決することを目的とした（図4.1.1）。給餌については、定量送液ポンプ等を使用することで自動化を検討した。ツボワムシとタマミジンコの飼育に関しても、同様に定量送液ポンプで自動的に餌のクロレラを供給することで、省力化を可能とするシステムの開発を行った。また、成虫の餌に関しては、より生活史が短く飼育が容易な生物、例えばショウジョウバエ等を用いることで簡便化を可能とした。

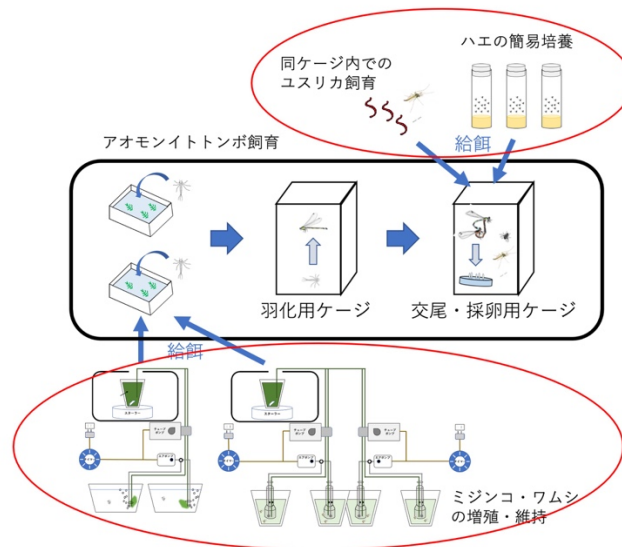


図4.1.1 アオモンイトトンボの自動給餌飼育システムの全体像

本システムを1年半稼働して、以下に示す毒性試験用のトンボ幼虫の供給も可能とすることができた。詳細な完成システムについては、別添の「室内実験室におけるアオモンイトトンボ簡易飼育マニュアル」に記してある。本マニュアルは今後、アオモンイトトンボを試験生物として使用する際に実用可能な成果物として提出する。

③急性毒性試験による感受性比較:

表4.1.1の通り、アオモンイトトンボはアキアカネに比べ、薬剤感受性がやや高い傾向が示された。メソコズムを用いた先行研究においては、フィプロニル施用区においてアキアカネが減少しアオモンイトトンボが増加することが報告されているが、今回の結果はそれに反する。このことは、半野外試験で見られた上記のような現象は、トンボ自身の薬剤感受性の差異によるものではなく、卵・幼虫期間の長さや餌の種類、微小生息環境の違いなどの生態特性の差異によるものであることを示唆する。

今回得られたトンボ類に対する急性影響濃度を、ユスリカの1種 *C. dilutus* に対する急性影響濃度⁴⁾と比較すると、*C. dilutus*の方が感受性が高いことが示された。このことから、急性影響に関する限り、ユスリカ類を用いた評価はトンボ類に対しても保護的であると考えられた。ただし、急性影響のみの評価では野外トンボ類の保全には不十分と考えられることは上述の通りである。

表4.1.1 フィプロニル、分解産物およびエチプロールに対する各昆虫種のEC50(μg/L)

	アオモン ¹⁾	アキアカネ ¹⁾	<i>C. dilutus</i> ²⁾
フィプロニル	0.766	1.368	0.0300-0.0500
スルホン	0.422	0.815	0.0075-0.0079
スルフィド	0.264	0.644	0.0093-0.0105
デスルフィニル	1.036	2.601	データなし
エチプロール	9.946	18.082	データなし

1) 48時間後遊泳阻害濃度

2) 96時間後接触忌避阻害濃度 : Weston & Lydy, Environ Sci Technol (2014)より引用

④実環境に近い暴露影響評価試験法検討:

④-1 長期暴露試験(慢性毒性試験) アキアカネ脱皮阻害試験の結果について、両薬剤とも無処理区に比べ処理区で2齢幼虫期間の延長が見られた(図4.1.2)。ただし、エトキサゾール50 μg/L区では3日目までに全個体が死亡したため図示していない。この方法を用い、標準的な2回目脱皮期間である6日目の脱皮率をエンドポイントとし、脱皮率に対するEC50を算出するといった形で薬剤の脱皮阻害を評価することが可能であると考えられた。また、10日間に渡って飼育を継続することができたことから、亜急性毒性試験についても同様に実施可能と考えられた。

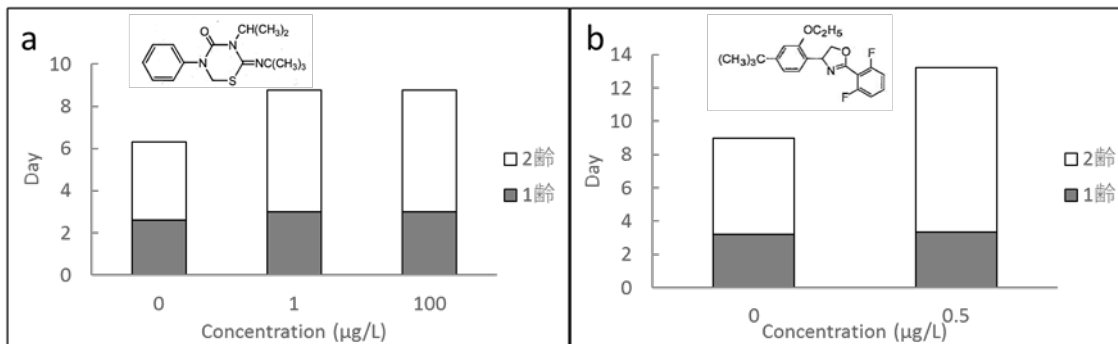


図4.1.2 IGR剤に暴露したアキアカネ幼虫の齢期間。a. ブプロフェジン; b. エトキサゾール

各薬剤の慢性毒性による継時的な影響は図4.1.3、および図4.1.4のようになった。イミダクロプリド、およびフィプロニルの両剤においてその濃度に伴って影響が生じている。またイミダクロプリド2.5, 5.0 ppbやフィプロニル0.25, 0.50 ppbなど、特に低濃度処理区においては暴露当初は影響が少なくても、経過日数に伴って徐々に影響が大きくなる傾向がみられた。

長期暴露期間(4週間)における半数個体影響濃度および致死濃度(4wk EC50、4wk LC50)はそれぞれ、イミダクロプリドで3.02、3.58、フィプロニルで0.177、0.449 (ppb)となった(表4.1.2)。相対的に比較すると、特にフィプロニルの方がLC50とEC50の差が大きく、フィプロニルの遅効性が表れていると考えられる。さらに比較のため、H27年度の本事業において実施したアオモンイトトンボに対する各農薬の急性毒性試験結果を表2に再掲している。今回の慢性毒性による4wk EC50値は急性毒性試験結果(48h EC50)に比べかなり小さい。また比較的供試濃度が高い処理区では、暴露当初から影響が生じており、長期暴露のみでなく餌生物を介した効果が影響していると考えられる。餌生物の摂食に伴い農薬の取り込み量が増加している可能性がある。

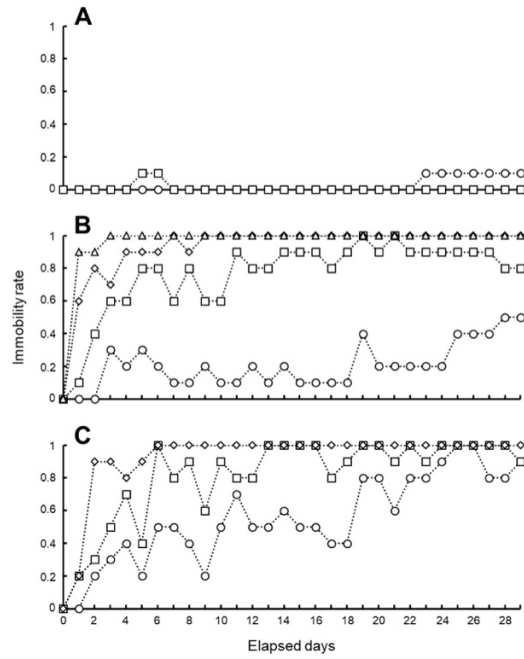


図4.1.3 フィプロニルとイミダクロプリドのアオモンイトトンボに対する反応の暴露経過日数に伴う変化(遊泳阻害)

- A ○:Control1; □:Control2
- B イミダクロプリド ○: 2.5ppb; □: 5.0 ppb; ◇: 10 ppb; △: 20 ppb
- C フィプロニル ○: 0.25 ppb; □: 5.0 ppb; ◇: 10 ppb

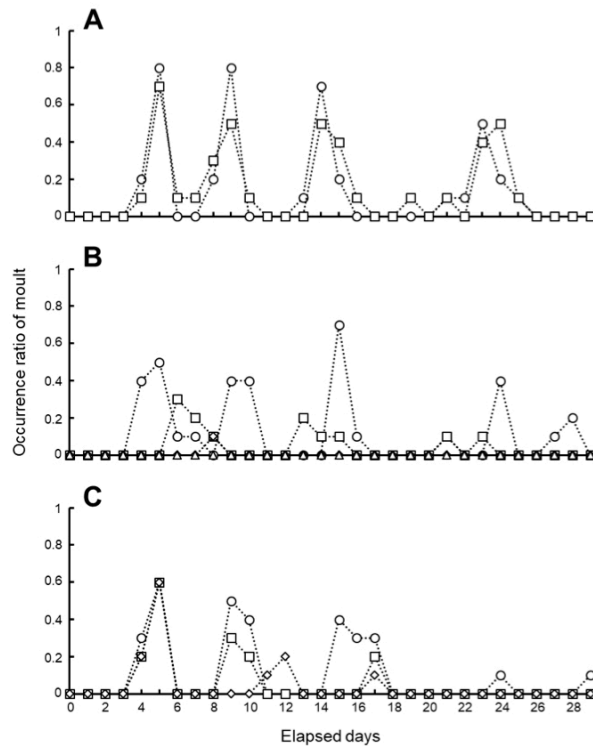


図4.1.4 フィプロニルとイミダクロプリドのアオモンイトトンボに対する反応の暴露経過日数に伴う変化(脱皮個体の割合)

- A ○:Control1; □:Control2
- B イミダクロプリド ○: 2.5ppb; □: 5.0 ppb; ◇: 10 ppb; △: 20 ppb
- C フィプロニル ○: 0.25 ppb; □: 5.0 ppb; ◇: 10 ppb

表4.1.2 アオモンイトトンボに対する各農薬の48時間後半数影響濃度と4週間後半数影響濃度

農薬名	急性毒性試験結果 (H27)			慢性毒性試験結果			
	濃度 区数	公比	48h EC ₅₀ ($\mu\text{g/L}$)	濃度 区数	公比	4wk EC ₅₀ ($\mu\text{g/L}$)	4wk LC ₅₀ ($\mu\text{g/L}$)
イミダクロプリド	6	*	112	4	2	3.02	3.58
フィプロニル	7	2	1.84	3	2	0.177	0.449

薬剤処理区の中には観察の過程でコントロールと変わらない様子を示していたにも関わらず、齢数が進んだ段階で突然死亡するケースなども見られた。長期暴露によって蓄積された薬剤・毒性影響が顕在化したと考えられる。

試験中の各日に脱皮個体の割合を検証したところ、コントロールでは供試個体の脱皮のタイミングはほぼ一致しており、そのピークがそろっているのに対し、薬剤処理区ではその濃度が大きくなるにつれ脱皮のタイミングおよび脱皮そのものの乱れが生じていた。薬剤処理により脱皮・発育の遅延が確認され、薬剤濃度が高いほど、個体の体長が小さくなる傾向がみられた（図4.1.5）。中には脱皮が行えなかったため、形態異常となる個体も確認された（図4.1.6）。これらより急性毒性試験では影響が生じない低濃度においても、長期暴露および餌生物の存在により、アオモンイトンボの生存に大きく影響する事が明らかとなった。

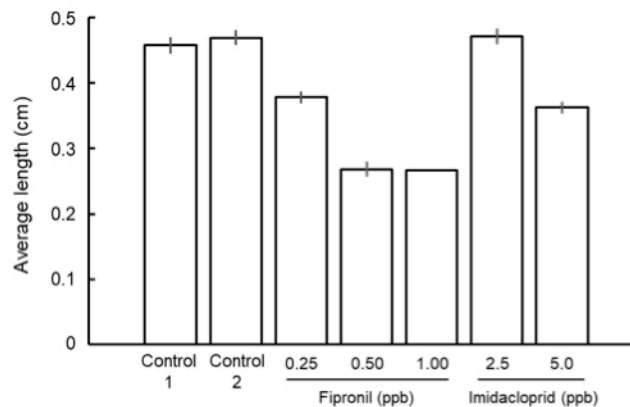


図4.1.5 試験期間終了時に生存していた個体の平均体長(cm)

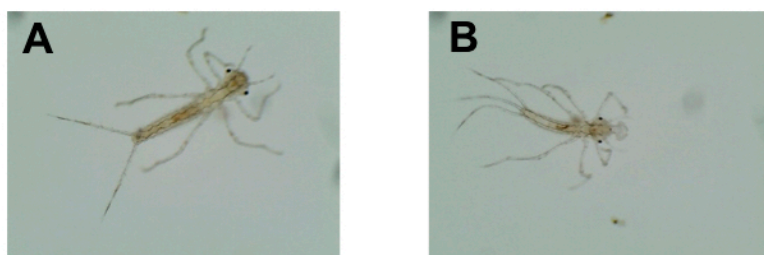


図4.1.6 慢性毒性試験期間中のアオモンイトンボの形態

A Control1; B イミダクロプリド2.5ppb

環境省委託業務「平成26年度農薬水域生態リスクの新たな評価手法確立事業」報告書 (p. 103) 2)において、統計学的手法により各種農薬の用途別の環境中予測濃度 (PEC) が試算されている。これらのうち、本事業で対象とした二つの薬剤の水田PECTier2は以下の通りである (単位 $\mu\text{g/L}$ 、複数の用途について試算されているものは最高値)。イミダクロプリド0.022、フィプロニル0.0017。また、本事業において野外環境から検出された各農薬の水中濃度の予測値および実測値と比較して、本年度業務によ

り算出された各薬剤のアオモンイトトンボに対する4wk EC50は、H27年度の結果（48h EC50）より近い値となっている。したがってこれらの薬剤については、状況によってはアオモンイトトンボに慢性毒性影響を生じる可能性が否定できない。とはいえ、ここで参照した地域別の水田PECはあくまでも主要河川について算出されたものであり、本業務で対象とした水田周辺の水環境における農薬濃度の予測ではないことは注意が必要である。

なお、数か月から種によっては数年という長い生活史を持つトンボ類に対する生態リスク評価としては、これまでの急性影響評価のみでは十分とは言えず、従来、環境中の低濃度農薬に長期間暴露した場合の影響評価として生活史（ライフサイクル）毒性試験や餌生物を介した間接毒性試験など、毒性試験の高度化の必要があった。今回、本事業によりはじめてアオモンイトトンボにおいて長期慢性毒性試験が実施された。その結果、餌生物を介した間接毒性の大きな効果が明らかとなり、長期暴露によりこれまで想定されていたよりもかなり低濃度で影響が生じる事がわかった。これらは従来の急性毒性試験のみでは環境リスク評価として不十分であり、今後のリスク評価のための試験生物および試験法を検討していく必要がある事を示している。本事業で試験生物として扱っているアオモンイトトンボは全国に広く分布し、農薬に対してOECD-TG試験生物と同等またはそれ以上の感受性を持つことがわかっており、農薬の環境リスク評価試験生物の有力な候補の一つである。上述の飼育システムと長期慢性毒性試験法を組み合わせる事は、今後の農薬の環境リスク評価の高度化・普及可能性に貢献するものと考えられる。

④-2 給餌影響試験 アオモンイトトンボを用いた摂食の有無による農薬影響の違いに関する試験については、フィプロニル濃度1.25 µg/L区において餌の有無により影響率に差が見られた（図4.1.7）。この原因として餌生物体内に薬剤が取り込まれ、それを摂食したことによる影響が加わるためと推測された。このように成長期間の長いトンボ類については、餌を介した農薬の暴露影響も考慮する必要があることが示された。

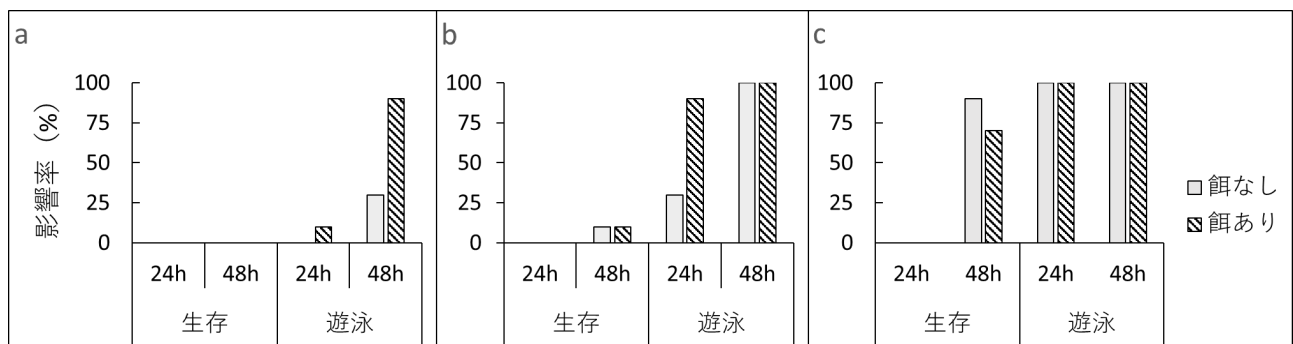


図 4.1.7 アオモンイトトンボ幼虫を同濃度のフィプロニルに暴露した際の、餌の有無による影響率の違い。

a. 0.625 µg/L; b. 1.25 µg/L; c. 2.5 µg/L

④-3 簡易メソコズム試験 最後に簡易水田メソコズムでの調査においては、イトトンボ科（アオモンイトトンボ・アジアイトトンボ）およびトンボ科（ウスバキトンボ）の幼虫の出現が観察された。殺虫剤フィプロニル施用区および除草剤ペントキサゾン施用区の両方において、無処理区と比較してイトトンボ科およびトンボ科の幼虫発生量は有意に減少していることが示され、また両剤が混用された区では、トンボ科の発生がゼロとなり、影響がより強くなることが示唆された（図4.1.8）。これらの結果はサブ2のメソコズム試験およびサブ3の野外調査においても除草剤によるトンボ群集への影響が観察された結果と一致する。

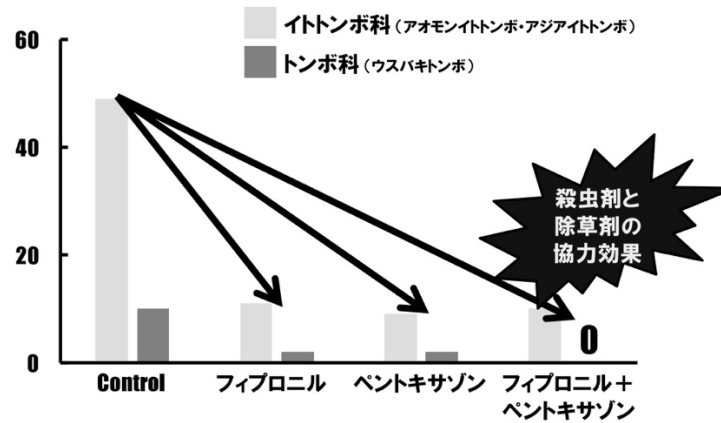


図4.1.8 簡易メソコズムによる殺虫剤・除草剤のトンボ幼虫生息数に対する影響

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

従来の室内毒性試験で得られた毒性値に基づくリスク評価が実際の環境中における影響実態から乖離していることを生態学的に明らかにして、生態学的視点に基づく生態リスク評価・影響評価の重要性を示した。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

課題代表の五箇が座長を務める環境省「平成29年度農薬の昆虫類への影響に関する検討会」において、トンボ類の毒性データおよび野生個体群の動態データを提供し、農薬による影響評価および政策の検討に貢献した。

課題代表の五箇が座長を務める環境省「平成29年度水産動植物登録保留基準の運用・高度化検討会」においてトンボ類の毒性データ・メソコズム試験データに基づき、水生生物種の生活史を考慮した慢性（長期暴露）影響評価の必要性を議論した。

<行政が活用することが見込まれる成果>

アオモンイトトンボの累代飼育装置は、本種を長期暴露（慢性毒性）試験に実用する際には、試験生物供給システムとして活用が見込まれる。

6. 国際共同研究等の状況

特になし

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

1) Sugital N, Agemori H and Goka K (2018) Acute toxicity of neonicotinoids and some insecticides to first instar nymphs of a non-target damselfly, *Ischnura senegalensis* (Odonata: Coenagrionidae), in Japanese paddy fields. *Appl. Entomol. Zool.*, <https://doi.org/10.1007/s13355-018-0583-7>

- 2) Jinguji H, Ohtsu K, Ueda T, Goka K (2018) Effects of short-term, sublethal fipronil and its metabolite on dragonfly feeding activity. PLOS ONE, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200299>
- 3) Furihata S, Kasaia A, Hidaka K, Ikegama M, Ohnishi H & Goka K (2019) Ecological risks of insecticide contamination in water and sediment around off-farm irrigated rice paddy fields. Environmental Pollution 252: 628-638.

<その他誌上発表（査読なし）>

特になし

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 降幡駿介・今野文・五箇公一：第62回日本応用動物昆虫学会大会（2018）
トンボ類幼虫における殺虫剤感受性の種間差
- 2) 池上真木彦・五箇公一：日本生態学会 第66回全国大会（2019）
生物季節観測データを用いた、アキアカネをはじめとする生物相の経年変化分析
- 3) 池上真木彦・五箇公一：日本応用動物昆虫学会 第63回全国大会（2019）
長期生物季節観測データから読み解くアキアカネの減少
- 4) 村田康允・降幡駿介・五箇公一：第63回日本応用動物昆虫学会大会、つくば市（2019）
アオモンイトトンボ幼虫における餌資源を介したフィプロニル影響、
- 5) 五箇公一：第46回日本毒性学会学術年会シンポジウム（2019）
我が国における農薬の生態リスク最前線

(3) 知的財産権

特になし

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 五箇公一（2017）「ネオニコチノイド農薬による生態影響の現状と課題」において国立環境研における農薬聖地リスク評価研究の最前線を紹介、参議院議員勉強会、参議院会館第二会議室（2017年5月31日、参加者数約100名）
- 2) 五箇公一・降幡駿介（2017）「国立環境研におけるネオニコチノイド農薬生態リスク評価」の紹介展示、エコライフフェア、代々木公園（2017年6月3日、来場者数約500人）
- 3) 五箇公一（2017）「生物多様性と私たちの生活」の講演において農薬生態影響の問題を解説、富山北部中学校（2017年7月13日、聴講者約300人）
- 4) 五箇公一（2017）「生物多様性と私たちの生活～人間は生物と共生できるか？～」の講演において農薬生態影響の問題を解説、えひめ環境大学（一般向け講座）（2017年7月29日、聴講者数約100人）
- 5) 五箇公一（2017）「生物多様性と私たちの生活」の講演において農薬生態影響の問題を解説、東京都教育委員会理科教育カンファレンス、かつしかシンフォニーヒルズ（2017年7月31日、聴講者数約500名）
- 6) 五箇公一（2017）「生物多様性と私たちの生活」の講演において農薬生態影響の問題を解説、東京都教育委員会理科教育カンファレンス、パルテノン多摩（2017年8月1日、聴講者数約500名）
- 7) 五箇公一（2017）「ネオニコチノイドに代表される現代農薬の生態リスク評価および対策の最前線を紹介」、第44回農薬登録担当者意見交換会、メルパルク東京（2017年9月7日、聴講者約100名）
- 8) 五箇公一（2017）「生物多様性と生態リスク」の講演において農薬による生態影響の実態と対策について紹介、全国労働衛生週間説明会特別講演、名古屋国際会議場（2017年9月12日、聴講者約

100名)

- 9) 五箇公一 (2017) 「生物多様性と私たちの生活」の講演において農薬による生態影響の実態と対策について紹介、北日本政経懇話会、富山第一ホテル (2017年9月27日、聴講者約100名)
- 1 0) 五箇公一 (2017) 「生物多様性と生態リスク」の講演において農薬による生態影響の実態と対策について紹介、熊本市生物多様性戦略勉強会、熊本市現代美術館会議室 (2017年11月2日、約100名)
- 1 1) 五箇公一 (2017) 「生物多様性と私たちの生活」の講演において農薬による生態影響の実態と対策について紹介、茨城県市長会・町村町会自治勉強会、茨城県市町村会館大会議室 (2017年11月7日、聴講者約100名)
- 1 2) 五箇公一 (2017) 「生物多様性戦略と生態リスク管理」の講演において農薬による生態影響の実態と対策について紹介、環境パートナーシップ・CLUB (EPOC) 主催「EPOC自然共生社会分科会セミナー」、ヤマザキマザック 会議室 (2017年11月29日、聴講者約100名)
- 1 3) 五箇公一 (2017) 「国立環境研究所における生態リスク管理戦略」の講演において農薬による生態影響の実態と対策について紹介、福岡県市町村職員講習会、福岡県市町村職員研修所 (2017年12月15日、聴講者約100名)
- 1 4) 五箇公一 (2018) 「生物の多様性と環境の保全」、高知県新エネルギー推進講演会、高知市、2018年5月7日
- 1 5) 五箇公一 (2018) 「生物の保全」、東工大2018年度社会人アカデミー、東工大キャンパス・イノベーションセンター、東京都、2018年5月26日
- 1 6) 五箇公一 (2018) 「生物多様性の保全」、東京農工大「生物生産科学フロンティア講義II」、東京農工大学農学部、府中市、2018年6月29日
- 1 7) 五箇公一 (2018) 「生物多様性異変～人為的な環境攪乱がもたらす変化」、平成30年度えひめ環境大学、愛媛大学総合情報メディアセンター、松山市、2018年7月28日
- 1 8) 五箇公一 (2018) 「生物多様性と私たちの生活」、第5回とかしきなおみモーニングセミナー、ホテルニューオータニ、東京都、2018年9月6日
- 1 9) 五箇公一 (2018) 「地域振興のための生物多様性と環境保全」、たかしん講演会、ウィングウイング高岡、高岡市、2018年10月11日
- 2 0) 五箇公一 (2018) 「生物多様性と私たちの生活」、第13回エコアクション21全国交流研修大会、ベルサール神田、東京都、2018年10月12日
- 2 1) 五箇公一 (2018) 「生物多様性異変」、NTT東日本東京本社、新宿、2018年11月5日
- 2 2) 五箇公一 (2018) 「生物多様性とは何か？なぜ守るのか？」、さくら湖自然環境フォーラム2018、三春交流館、福島県三春町、2018年11月9日
- 2 3) 五箇公一 (2018) 「人間社会と生物多様性」、数研セミナー (生物)、数研出版関東支社ビル、東京都足立区、2018年11月10日
- 2 4) 五箇公一 (2018) 「人間社会と生物多様性」、数研セミナー (生物)、数研出版関西本社ビル、京都市、2018年11月17日
- 2 5) 五箇公一 (2018) 「生物多様性とは何か？なぜ守るのか？」、人間環境大学環境教育センター環境保全セミナー#12、岡崎市、2018年12月13日
- 2 6) 五箇公一 (2019) 「生物多様性と私たちの生活」、NTT東日本『さびリンピック』、NTT中央研修センタ、調布市、2019年1月25日
- 2 7) 五箇公一 (2019) 「生物多様性と私たちの生活」、平塚地区環境対策協議会「環境保全講習会」、横浜ゴム株式会社会議室、平塚市、2019年2月13日
- 2 8) 五箇公一 (2019) 「生物多様性異変～人間は生物と共生できるのか？」、東京ジュニア科学塾

専修コース（第8回）、都民ホール、東京都新宿区、2019年3月3日

- 29) 五箇公一（2019）「地球環境変動と生態リスク～我々は生き延びられるのか?」、2018年度バイエルセミナー、福岡県中小企業振興センター、福岡市、2019年3月5日
- 30) 五箇公一（2019）「地球環境変動と生態リスク～我々は生き延びられるのか?」、2018年度バイエルセミナー、新大阪ブリックビル、大阪市、2019年3月6日
- 31) 五箇公一（2019）「地球環境変動と生態リスク～我々は生き延びられるのか?」、2018年度バイエルセミナー、大手町KDDビル、東京都千代田区、2019年3月7日
- 32) 五箇公一（2019）「生物多様性と私たちの生活」、宇部興産基盤技術研究所講演会、宇部興産、宇部市、2019年3月8日
- 33) 五箇公一（2019）「我が国におけるハナバチ類生態影響実態およびリスク評価システムの導入」、イナリサーチ 農薬セミナー、TKP東京日本橋カンファレンスセンター、東京、2019年5月13日
- 34) 五箇公一（2019）「生物多様性と私たちの生活」、企業とNGOとの交流会2019年度シンポジウム、経団連会館、東京、2019年5月22日
- 35) 五箇公一（2019）「生物の保全」東工大社会人アカデミー、東工大、東京、2019年5月25日
- 36) 五箇公一（2019）「我が国におけるハナバチ類生態影響実態およびリスク評価システムの導入」、イナリサーチ 農薬セミナー、TKP東京日本橋カンファレンスセンター、東京、2019年5月13日
- 37) 五箇公一（2019）「生態学のフロンティア」、人間環境大学集中講義、人間環境大学、岡崎市、8月8日～9日
- 38) 五箇公一（2019）「農薬の生態リスク評価最前線」、ミツバチサミット特別講演、つくば国際会議場、つくば市、12月14日
- 39) 五箇公一（2019）「農薬の生態リスク最前線～生物・生態系の持続的利用を目指して」、岐阜大学グローバル推進機構地域国際化セミナー、岐阜大学、岐阜市、12月20日

(5) マスコミ等への公表・報道等

特になし

(6) その他

特になし

8. 引用文献

- 1) Sanchez-bayo F. and Goka K. (2007) Simplified models to analyse time- and dose-dependent responses of populations to toxicants. *Ecotoxicology* 16: 511-524.
- 2) Hayasaka, D., T. Korenaga, F. Sánchez-Bayo and K. Goka (2011) Differences in ecological impacts of systemic insecticides with different physicochemical properties on biocenosis of experimental paddy fields. *Ecotoxicology* 21(1):191-201
- 3) Kasai A, Hayashi T I, Ohnishi H, Suzuki K, Hayasaka D and Goka K (2016) Fipronil application on rice paddy fields reduces densities of common skimmer and scarlet skimmer. *Scientific Reports*. DOI: 10.1038/srep23055
- 4) Weston D P and Lydy M J (2014) Toxicity of the insecticide fipronil and its degradates to benthic macroinvertebrates of urban streams. *Environ. Sci. Technol.* 48:1290-1297

II-2 メソコズム試験による生態影響評価

近畿大学農学部

早坂大亮

平成29年度～令和元年度研究経費（累計額）：30,680千円（研究経費は間接経費を含む）
（平成29年度：10,400千円、平成30年度：9,880千円、令和元年度：10,400千円）

[要旨]

水田生物多様性に対する農薬の生態影響に関する既存の研究は、生物に与える直接的な影響評価が中心であった。そのため、水田生態系において生物間相互作用を考慮して農薬の影響を評価、すなわち「間接的な影響」に着目した研究は未だ少ない。そこで、本サブテーマでは、殺虫剤が水田のトンボ目幼虫に与える直接的な影響にくわえ、除草剤がもたらす水草の減少を介した間接的な影響を明らかにすることを目的に、3年間にわたる水田メソコズム試験を行い、以下の項目について検証した。

- ①薬剤の環境中動態分析
- ②維管束植物を含めた群集動態解析
- ③殺虫剤・除草剤がトンボ目幼虫に与える単独及び複合的な影響
- ④殺虫剤・除草剤の長期連続施用が水田昆虫群集に与える影響
- ⑤群集動態解析によるトンボ類影響評価法の開発

これらの結果から、水田の実環境、すなわち殺虫剤だけではなく除草剤も施用される状況における、より実態に即した農薬のトンボ類に対する影響の評価を行った。

[キーワード]

農薬の間接影響、ハビタット選好性、メソコズム試験、ペントキサゾン、フィプロニル、Empirical Dynamic Modeling

1. はじめに

水田生物群集を対象とした農薬の影響評価に関する近年の研究から、ネオニコチノイド系やフェニルピラゾール系をはじめとする種々の殺虫剤が水田のトンボ群集に与える影響の理解は大きく前進しつつある。このような研究の前進に大きく貢献してきたのが、ラボ試験と野外調査との中間に位置づけられる、いわゆるメソコズム（模擬生態系）を用いた農薬影響評価というアプローチである。このアプローチを用いた研究により、特にフェニルピラゾール系殺虫剤であるフィプロニルが、実環境中では室内における急性毒性値よりきわめて低い濃度でもトンボ目幼虫に強い影響をおよぼすことが明らかになってきた¹⁾²⁾。似たような傾向は、さまざまな系統剤でも報告されている。

一方で、農薬は生物に対して直接的な毒性を示すだけでなく、実環境中の生物群集を構成する他の生物との相互作用を介して間接的にも影響しうる。一般に、除草剤は昆虫に対して直接毒性をもたらすことは想定されないが、植物プランクトンや水田内の維管束植物（水草）の減少を介して、水田の昆虫群集に影響を与え得る点で、注目に値する研究材料である。また、農薬の間接影響は、生物間相互作用を左右する生物形質に依存して変化すると考えられる³⁾。たとえば、水草上で生活するイトトンボ亜目の幼虫は、水底で生活するトンボ科の幼虫と比べ、除草剤による水草の減少の悪影響を受けやすいと予想される。しかし、水田生物多様性に対する農薬の生態影響に関する研究はこれまで、生物に与える直接的な影響の評価が中心であり、水田生態系において生物間相互作用を考慮して農薬の影響を評価した研究は未だ少ない。

2. 研究開発目的

そこで、本サブテーマでは、殺虫剤が水田のトンボ目幼虫に与える直接的な影響にくわえ、除草剤がもたらす水草の減少を介した間接的な影響を明らかにすることを目的に、以下の項目を検証した。

①薬剤の環境中動態分析

②維管束植物を含めた群集動態解析

③殺虫剤・除草剤がトンボ目幼虫に与える単独及び複合的な影響

④殺虫剤・除草剤の長期連続施用が水田昆虫群集に与える影響

さらに、⑤群集動態解析によるトンボ類影響評価法の開発の一環として、農薬が水田の生物間相互作用に与える影響を明らかにするために、近年発展しつつある手法である非線形時系列解析

(Empirical Dynamic Modeling:EDM) を用いた解析を試みた。

3. 研究開発方法

農薬が水田生態系の生物多様性に与える直接的または生物間相互作用を介した間接的な影響を評価するため、水田メソコズム（模擬生態系）を用いてトンボ目幼虫群集に着目した曝露実験を行った。試験薬剤は、わが国で一般的に使用される農薬のうち、除草剤はペントキサゾン、殺虫剤はフィプロニルをそれぞれ選定した。

殺虫剤はトンボ目幼虫を殺すことで直接的な負の影響（個体数の減少）を与える一方、除草剤はトンボ幼虫の生息場所（ハビタット）となる維管束植物を減少させることで、間接的に影響を与えると予測される。この予測を検証するため、ペントキサゾンの有無とフィプロニルの有無を組み合わせた2×2=4処理の要因実験デザインを採用した。水田環境を模した8つの大型タンク（幅1.2 m×奥行2.8 m×高さ0.45 m）に上記の4処理をランダムに割り振り、数十年にわたり農薬の使用歴が確認されていない水田土壌をおのおの1 m³ずつ投入して、半止水式の人工水田（水田メソコズム）を設計した（図3.2.1）。稲（ヒノヒカリ）移植の前後に農薬を散布したのち（フィプロニルは箱処理、ペントキサゾンは株移植直後に水和剤にて散布）、2週に1回の頻度で生物調査（維管束植物の被度、トンボ目幼虫の個体数）を実施した。試験期間は、当該地域（近畿圏）の農事暦を参考に、5月下旬から10月中旬までとし、生物調査は農薬散布後20週目まで行った。この操作を2017年から2019年までの3年間連続して行い、上記測定項目に対するペントキサゾンおよびフィプロニルの効果を検証した。



図3.2.1 近畿大学農学部圃場に設置した人工水田(水田メソコズム)。

①薬剤の環境中動態分析

水田における除草剤ペントキサゾンと殺虫剤フィプロニルの環境中動態を明らかにするため、薬剤の水中および土壌中の残留濃度の挙動を3年間にわたりモニタリングした。サンプリングは原則として、農薬施用開始から数えて7日前、2時間後、1日後、2日後、4日後、7日後、14日後、28日後、56日後、98日後、140日後に行った。

②維管束植物を含めた群集動態解析

③殺虫剤・除草剤がトンボ目幼虫に与える単独及び複合的な影響

農薬散布が水田生物群集に与える影響を解析するため、各生物群の密度とトンボ目昆虫の密度について処理間で比較した。水田生物を、捕食性昆虫・植食性昆虫・デトリタス食性昆虫・維管束植物・植物プランクトン・動物プランクトンの6グループに分け、それぞれの生物群の密度に対する農薬散布処理の影響を、年ごとに反復測定ANOVAによって解析した。また、トンボ目幼虫を、水草上で生活するイトトンボ亜目およびヤンマ科と、水底で生活するトンボ科の2グループに分け、これらの密度に対する農薬散布処理の影響について、年ごとに疑似ポアソンGLMを用いたF検定によって解析した。

④殺虫剤・除草剤の長期連続施用が水田昆虫群集に与える影響

農薬の群集影響が年間で変動したかを検証するため、水田内の昆虫群集の組成を処理間および年間で比較した。農薬と年の影響を精度高く検証するため、partial Redundancy Analysis (partial RDA)を用いて群集組成の年変動の影響を取り除いた。この手法は、群集の種組成データ解析において、注目する要因以外の影響を統計的に制御することで、注目する要因の影響を精度高く検証できるという利点を有する⁴⁾。partial RDAにおいて年と農薬処理との交互作用が有意だった場合、農薬の群集影響に年変動があったと判定した。

⑤群集動態解析によるトンボ類影響評価法の開発

当該分野における既存の研究では、生物密度の増減の解析（PRC (Principal Response Curve) 等、群集組成の解析も含む）が中心であり、相互作用の強さを農薬がどのように変化させたのか示した研究はほとんどない。

この課題については、EDM (Empirical Dynamic Modeling) を用いた解析が有効ではないかと考えた。EDMとは、時系列データ（生物の密度や気温の時系列変化）から系の挙動を再構成する手法であり、近未来予測 (simplex projection, S-map)、変数間の因果関係の推定 (CCM)、変数間の相互作用強度の推定 (multivariate S-map) などが可能である。今回は、水田生物を、水草上捕食者・水底捕食者・水面上捕食者・植食者・デトリタス食者・動物プランクトン・植物プランクトン・維管束植物の8つのグループに分類し、各生物群の時系列データを用いたmultivariate S-mapによって生物間の相互作用強度の推定を行った。結果に基づき、農薬施用がトンボ類に与える影響の実態について考察した。

4. 結果及び考察

① 薬剤の環境中動態分析

水中・土壌中とも、除草剤ペントキサゾンと殺虫剤フィプロニルの残留濃度の時間変化は、年間で類似していた（図4.2.1）。具体的には、両剤とも水中では散布直後にピークをむかえ、その後速やかに検出限界以下（0.1 ppb）まで低下した一方、土壌中では、水中に比べ残留濃度の低下速度はゆるやかだった。また、調査2年目（2018年）以降は、両剤とも土壌中から数ppb程度の残留が検出されるなど、長期残留の実態が確認された。ペントキサゾンの土壌中における残留傾向は顕著ではなかったが、フィプロニルは年を追うごとに、わずかながら増加する傾向が見られた。ただし、調査日間でのばらつきも大きいため、フィプロニルの土壌残留性については、本剤の物理化学的性状を加味したより詳細な環境中動態の解析をもって結論づけていきたい。

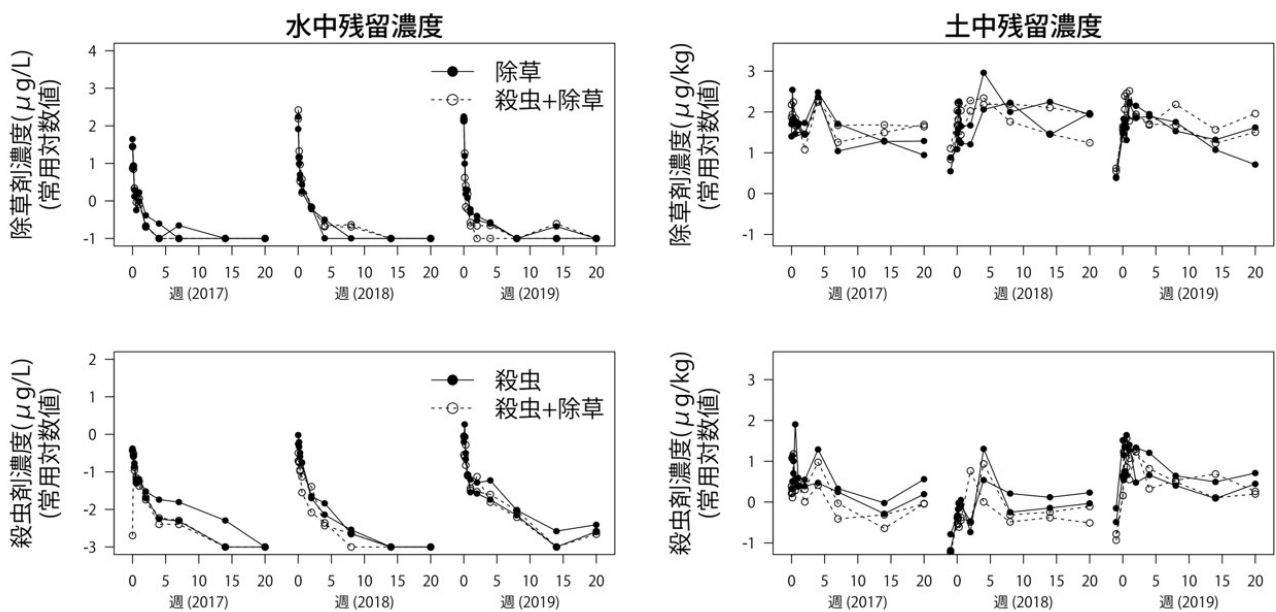


図4.2.1 各調査年における除草剤ペントキサゾンおよび殺虫剤フィプロニルの水中・土壌中残留濃度の時間変化。縦軸は常用対数値。

② 維管束植物を含めた群集動態解析

各調査年における捕食性昆虫、植食性昆虫、デトリタス食性昆虫、維管束植物、植物プランクトン（真核生物のみ）、および動物プランクトン（Crustaceaのみ）の密度を処理間で比較した結果を図4.2.2に示す。トンボ目幼虫を含む捕食性昆虫と、除草剤がトンボ目幼虫に与える影響の主要な経路と考えられる維管束植物および動植物プランクトンについて、特に注目して説明する。

捕食性昆虫については、調査3年目の2019年のみ有意ではなかったものの（反復測定ANOVA、殺虫剤処理、2017： $P < 0.05$ 、2018年： $P = 0.01$ 、2019年： $P = 0.16$ ）、すべての年で殺虫剤処理によって減少する傾向にあった。一方で、除草剤によって捕食性昆虫が減少するような傾向は観察されなかった。維管束植物については、すべての年で除草剤によって減少傾向が観察されたが、2019年では除草剤の影響が顕著だったのは調査シーズン序盤のみで、シーズン後半にはその影響は小さくなった（反復測定ANOVA、2019年：除草剤処理×調査週、 $P < 0.05$ ）。動植物プランクトンについては、植物プランクトンが年を経るごとに減少傾向にあったものの、実験処理による一貫した密度変化は観察されなかった。その他の生物群では目立った傾向はなかった。

これらの結果から、除草剤が捕食性昆虫に与える影響の主要な経路は、維管束植物の密度低下であることが示唆された。

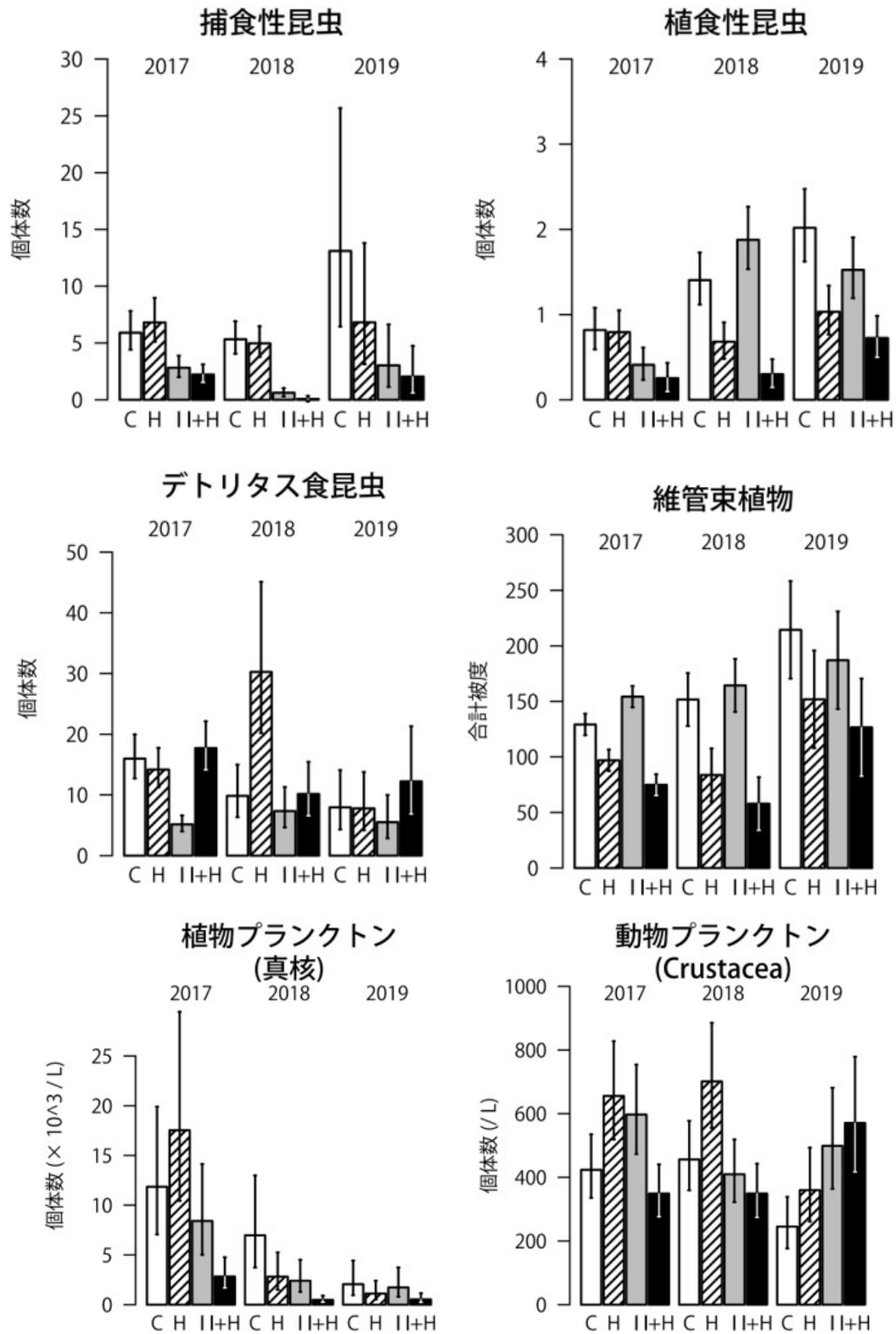


図4.2.2 捕食性昆虫、植食性昆虫、デトリタス食性昆虫、維管束植物、植物プランクトン(真核生物のみ)、動物プランクトン(Crustaceaのみ)における密度の処理間比較(最小二乗平均±SE)。

C:無処理区、H: 除草剤処理、I: 殺虫剤処理、I+H: 殺虫剤+除草剤処理。

③殺虫剤・除草剤がトンボ目幼虫に与える単独及び複合的な影響

各調査年におけるイトトンボ亜目+ヤンマ科幼虫、およびトンボ科幼虫の累積個体数を処理間で比較した結果を図 2-4 に示す。

水草上で生活するイトトンボ亜目とヤンマ科の幼虫については、2017年と2018年では累積個体数が除草剤散布によって減少する傾向がみられた（疑似ポアソン GLM, 2017年：P=0.15；2018年：P=0.03）。これは、除草剤が水田内の維管束植物の密度を減少させたことで、これら植物の基質を生息場所とするイトトンボ亜目やヤンマ科の幼虫に間接的に影響したことが原因と考えられる。他方で、両年とも殺虫剤の存在下では累積個体数は著しく減少し、除草剤が累積個体数に与える影響は観察されなくなった（図 4.2.3、I vs. I+H）。また、調査3年目の2019年では、農薬散布が累積個体数に与える影響は観察されなかった（疑似ポアソン GLM, P>0.6）。これは、2019年において除草剤が維管束植物の密度に与える影響が前年までに比べて小さかったことで説明できるかもしれない。

水底で生活するトンボ科幼虫については、年間で一貫した除草剤処理の影響は観察されなかった（図 2-4）。これは、水草上で生活するトンボ目幼虫に対して、水底で生活するトンボ目幼虫の方が除草剤の負の影響を受ける可能性が小さいという予測と一致する結果である。くわえて、すべての年で殺虫剤処理の強い負の影響（密度の低下）が観察された（疑似ポアソン GLM, P<0.01）。これは、今回使用した殺虫剤フィプロニルが、トンボ目、特にショウジョウトンボなどのトンボ科の幼虫に対して甚大な影響を与えるという先行研究を追認する結果である¹⁾²⁾。

全体として、1) 除草剤がトンボ目幼虫に与える間接的な影響は、存在はするが大きくはないこと、2) イトトンボ幼虫のように水草上で生活するグループの方が、除草剤の影響を受けやすいこと、そして3) すくなくとも殺虫剤フィプロニルの存在下では除草剤の間接影響は打ち消されてしまうこと、の3つが明らかとなった。

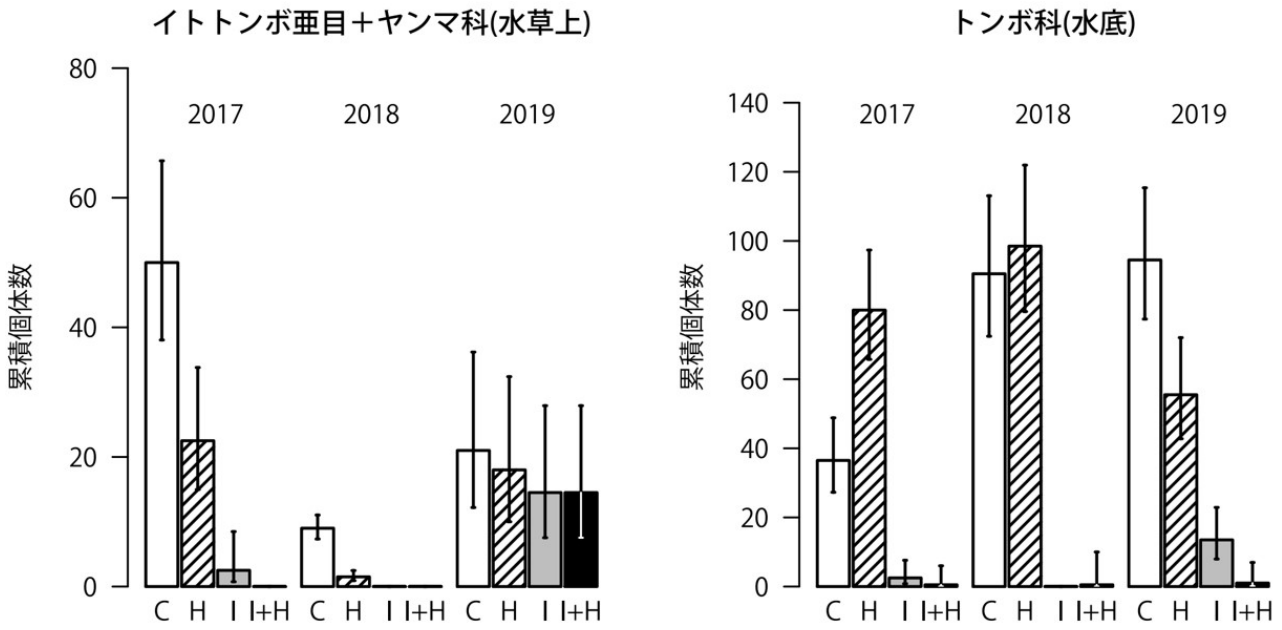


図 4.2.3 イトトンボ亜目+ヤンマ科幼虫(水草上に生息)およびトンボ科幼虫(水底に生息)

累積個体数の処理間比較(最小二乗平均±SE)。

C:無処理区、H:除草剤処理、I:殺虫剤処理、I+H:殺虫剤+除草剤処理。

各調査日ごとの平均個体数ではなく、累積個体数データであることに注意。

③ 殺虫剤・除草剤の長期連続施用が水田昆虫群集に与える影響

農薬が水田の昆虫群集の組成に与える影響を示した結果を図 4.2.4 に示す。RDA1 軸に沿って殺虫剤の影響が、RDA2 軸に沿って除草剤の影響が明瞭に表れた。除草剤の影響、殺虫剤の影響ともに、年によって大きさあるいは向きが変化することがわかった（除草剤×年：P=0.02，殺虫剤×年：P=0.01）。除草剤の影響の年変動については、年によって水草の減少の程度が異なったことが原因と考えられた（図 2-3 参照）。他方で、除草剤と殺虫剤の複合影響は、年によって有意な変化を示さなかった（除草剤×殺虫剤×年：P=0.14）。

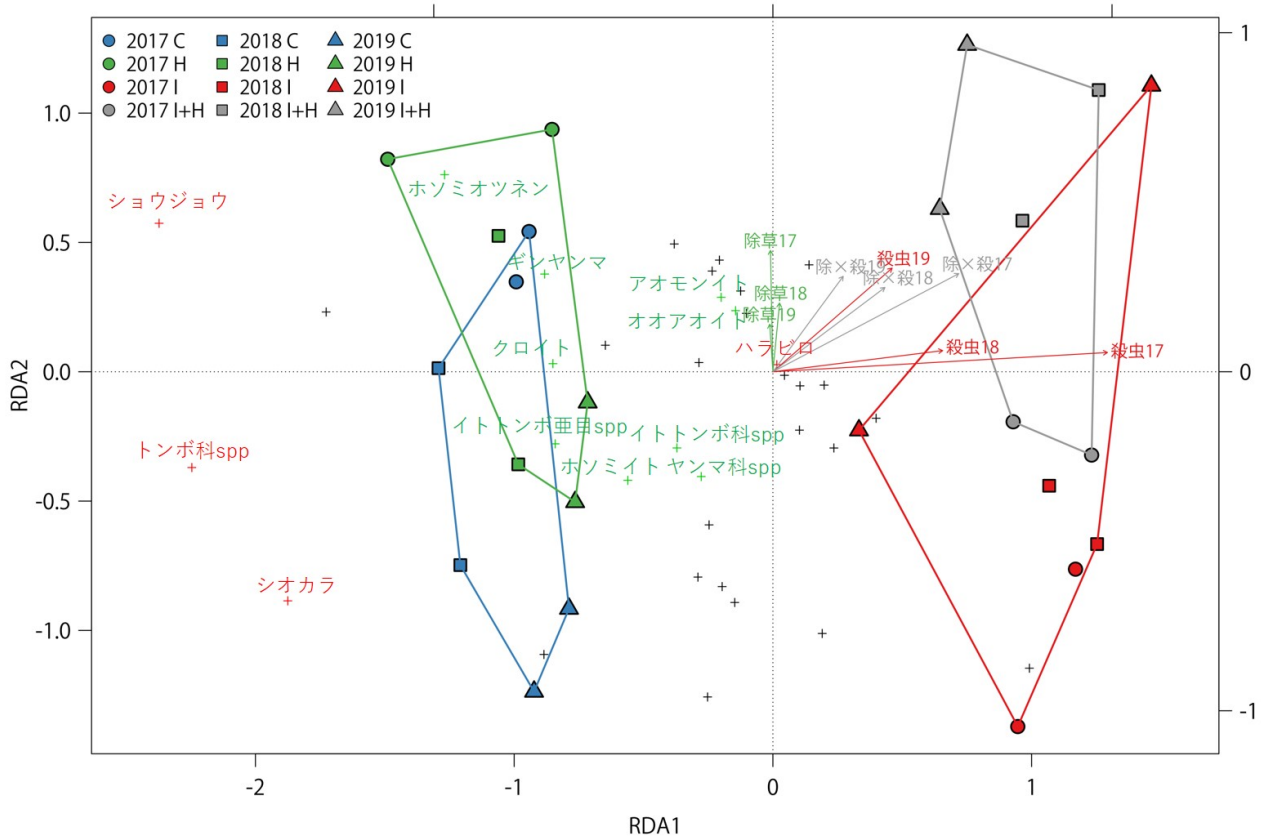


図 4.2.4 農薬散布が水田の昆虫群集に与える影響の年変動 (partial RDA)。

図中のシンボル(○□△)は、各年、各処理区の昆虫群集を、+は各種の加重を示す(トンボ目のみ種名まで示し、緑：水草上、赤：水底のようにハビタット選好性を色で示した)。シンボルが近いほど似た群集であることを示す。矢印は各年の農薬処理が水田の昆虫群集にもたらした影響の大きさと向きを表す。C:無処理区、H:除草剤区、I:殺虫剤区、I+H:除草剤+殺虫剤区。

④ 群集動態解析によるトンボ類影響評価法の開発

構築した EDM による予測性能を図 4.2.5 に示す。2017 年のデータを用いたモデルが、他の 2 年のモデルよりもやや予測性能に優れていることが観察された。これは、2018 年や 2019 年において、イトトンボ亜目やトンボ科、また植物プランクトンなど、密度の低い生物群が散見されたことと関連しているかもしれない。EDM の予測性能を維持するための最低限の情報を、データが持っていなかった可能性が考えられる。

次に、予測性能に優れていた 2017 年の EDM モデルを用いて、水田内の生物間相互作用ネットワークの再構成を試みた (図 4.2.6)。その結果、矢印の正負の入れ替わりは、対照区 vs. 除草剤区で 1/12、対照区 vs. 殺虫剤区で 3/7、対照区 vs. 殺虫剤+除草剤区で 1/7 となり、相互作用の正負が入れ替わってしまうような大きな変化は、農薬散布処理で起こらなかったことが示唆された。さらに、トンボ類 (水草上捕食性昆虫および水底捕食性昆虫) に直接つながる矢印に正負の入れ替わりは起こらなかった。全体として、農薬施用が水田生物間相互作用の正負と強度に与える影響は小さいことが示唆された。このことは、農薬施用が生物間相互作用を介してトンボに与える影響は、影響を媒介する生物の密度の変化によって大部分が予測可能であることを示唆している。他方で、維管束植物から水草上捕食性昆虫への影響が負であると推定されていることから、EDM のモデル自体の改良の必要性も示唆された。

総括として、EDM によって水田の生物間相互作用ネットワークの詳細を推定することが可能なことが示され、農薬の群集影響評価において注目すべき新たな手法であると考えられた。今後の手法の改良が期待される。

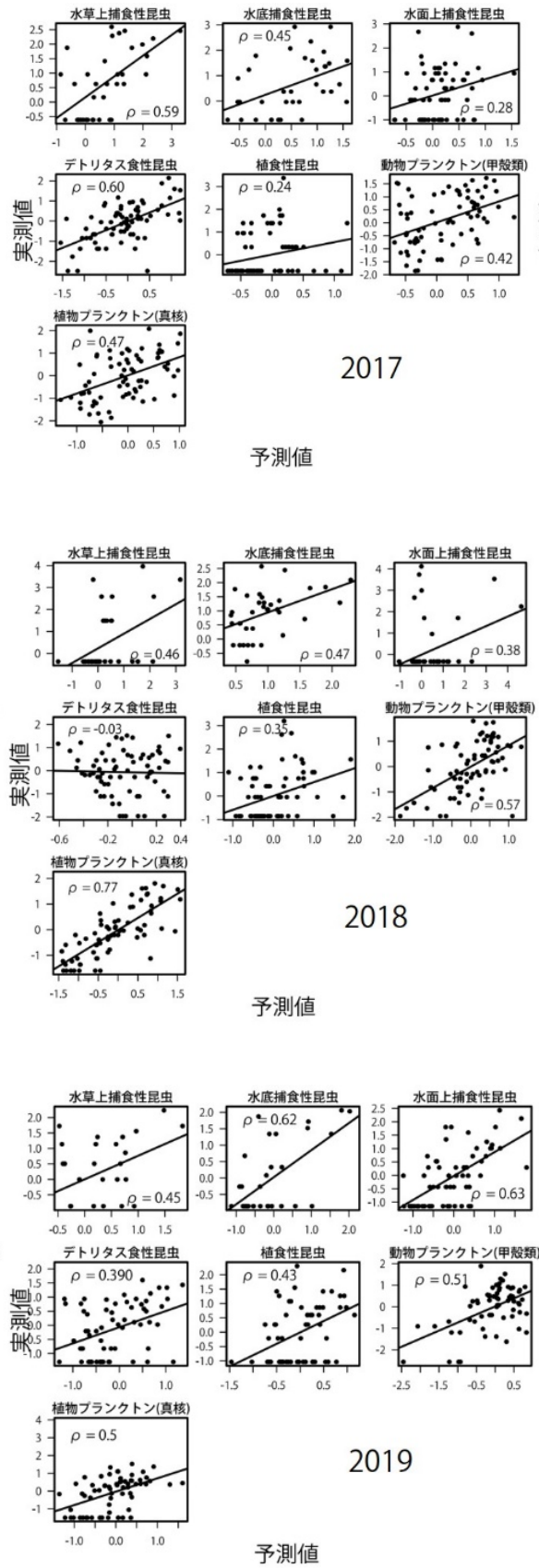
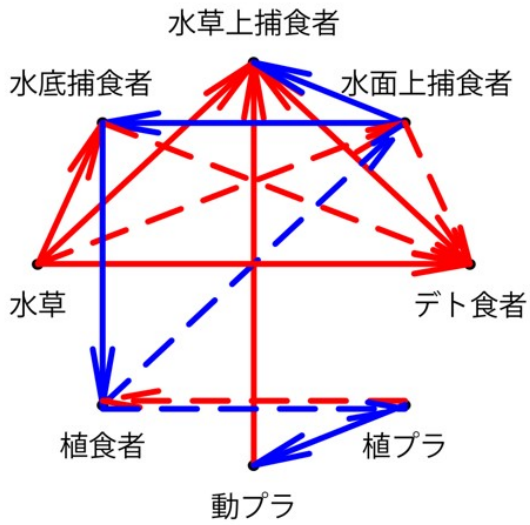


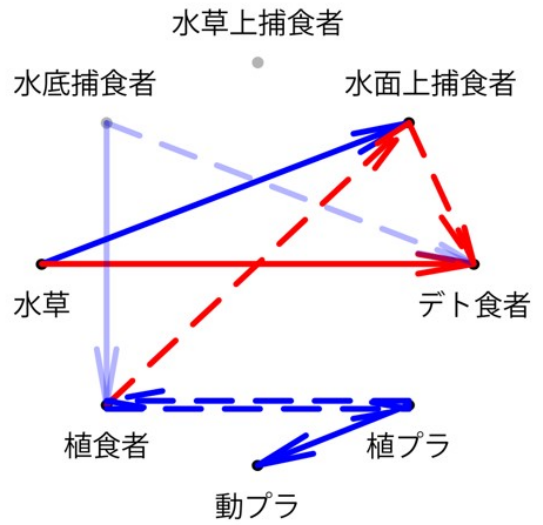
図 4.2.5 EDM による各生物群の密度の予測性能。

横軸に予測値を、縦軸に実測値を取った。各パネル内の ρ は Spearman の順位相関係数を、直線は単回帰線を示す。散布された点が直線状に並んでいるほど、予測性能が良いことを示す。

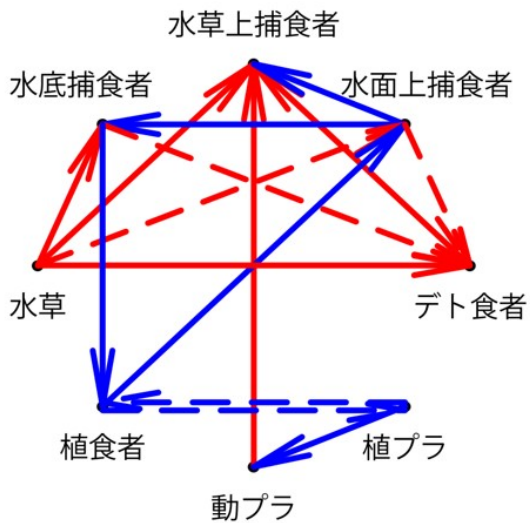
対照区



殺虫剤処理区



除草剤処理区



殺虫剤+除草剤処理区

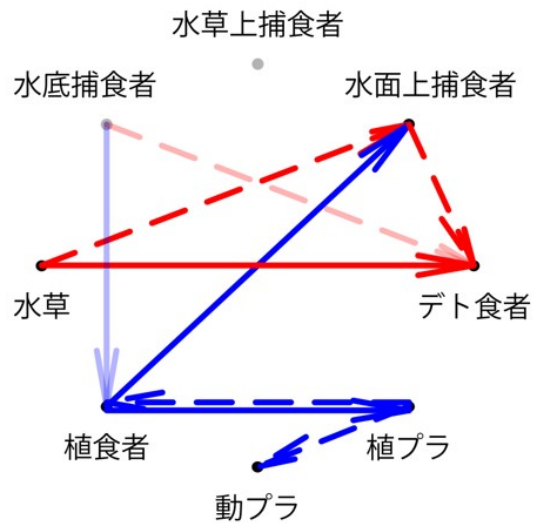


図 4.2.6 EDM によって再構成した生物間相互作用ネットワーク。

青矢印は正の影響、赤矢印は負の影響、実線は強い影響、破線は弱い影響を示す。また、半透明の矢印は、データ上は極めて低密度の生物が、仮に密度を増加させた場合に予測される影響を示す。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本研究の科学的意義は、これまで農薬の直接毒性に比べて注目されていなかった、生物間相互作用を介した農薬の間接影響に着目した点である。特に、水草の減少を介した除草剤の昆虫に対する間接影響が、昆虫のハビタット選好性に左右されることを示した研究は、世界でこれが初めてであり、科学的意義は大きい。また、すくなくともフィプロニルのような強い直接毒性を持つ殺虫剤の存在下では、除草剤の間接影響は打ち消されてしまうことも、複数種の農薬がもたらす複合影響の理解を促進する知見となり得ると考えられる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

農薬の間接影響が生物の生活史形質（たとえば、ハビタット選好性など）に左右されるという知見は、農薬がもたらす間接影響に対する個々の生物のリスクを、「生活史形質」によって推定可能であることを示唆するものであると考えられる。より精度の高い農薬リスクの予測には、今後も同様の科学的知見を蓄積することが必要となるだろう。

6. 国際共同研究等の状況

Hashimoto et al. (2019, Ecological Applications)において、オーストラリア・シドニー大学の Francisco Sánchez-Bayo博士と共同での執筆を行った。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) Hayasaka D, Kobashi K and Hashimoto K (2019) Community responses of aquatic insects in paddy mesocosms to repeated exposures of the neonicotinoids imidacloprid and dinotefuran. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 175: 272-281.
- 2) Hashimoto K, Eguchi Y, Oishi H, Tazunoki Y, Tokuda M, Sánchez-Bayo F, Goka K and Hayasaka D (2019) Effects of a herbicide on paddy predatory insects depend on their microhabitat use and an insecticide application. *Ecological Applications* 29: e01945.
- 3) Hashimoto K, Kasai A, Hayasaka D, Goka K and Hayashi TI (2020) Long-term monitoring reveals among-year consistency in the ecological impacts of insecticides on animal communities in paddies. *Ecological Indicators* 113: 106227.

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 橋本洗哉・江口優志・早坂大亮：第64回日本応用動物昆虫学会大会（2020）農薬施用後の生物間

相互作用の強さを測る：水田模擬生態系におけるケーススタディ

- 2) 江口優志・橋本洗哉・角谷 拓・早坂大亮：第64回日本応用動物昆虫学会大会（2020）農薬曝露が水田生物の食物網構造に及ぼす影響
- 3) 横山尚基・橋本洗哉・早坂大亮：第64回日本応用動物昆虫学会大会（2020）殺虫剤・殺菌剤の施用が土壌生物を介してダイズの生育に及ぼす影響
- 4) 江口優志・橋本洗哉・角谷 拓・早坂大亮：第64回日本応用動物昆虫学会大会（2020）農薬曝露が水田生物群集内の捕食 - 被食関係に及ぼす影響
- 5) Hashimoto, Koya, Eguchi, Yuji, & Hayasaka, Daisuke: 2019 Annual Conference of the Entomological Society of America (2019) Single and combined effects of an herbicide and an insecticide on the predatory insects of experimental paddies: The importance of predator microhabitat use
- 6) Hashimoto, Koya, Eguchi, Yuji, & Hayasaka, Daisuke: 第35回個体群生態学会大会(2019) Effects of a herbicide on paddy predatory insects are mediated by their microhabitat use.
- 7) 江口優志・橋本洗哉・早坂大亮：第63回日本応用動物昆虫学会大会（2019）安定同位体比分析による餌依存度を介した農薬の生物多様性影響評価の試み
- 8) 横山尚基・橋本洗哉・早坂大亮：第63回日本応用動物昆虫学会大会（2019）畑作物へのクロチアニジン投与が土壌節足動物に与える影響
- 9) 吉川大地・江口優志・橋本洗哉・早坂大亮：第63回日本応用動物昆虫学会大会（2019）水稲用農薬が分解者によるリター分解に与える影響
- 10) 橋本洗哉・笠井 敦・林 岳彦・五箇公一・早坂大亮：第63回日本応用動物昆虫学会大会（2019）数種の水稲用農薬が水田メソコスムの動物群集に与える影響の年間比較
- 11) 橋本洗哉・江口優志・早坂大亮：第66回日本生態学会大会（2019）非線形時系列解析を用いた水田生物間相互作用への農薬施用の影響評価の試み
- 12) 橋本洗哉・笠井 敦・林 岳彦・五箇公一・早坂大亮：第44回日本農薬学会大会（2019）農薬が水田動物群集におよぼす効果の年間比較と感受性指標種の抽出の試み
- 13) Hashimoto, Koya, Eguchi, Yuji, & Hayasaka, Daisuke: 2018 Annual Conference of the Ecological Society of Australia (2018) Microhabitat use of aquatic predatory insects reveals indirect herbicide effects on the predators
- 14) 橋本洗哉・江口優志・早坂大亮：第62回日本応用動物昆虫学会大会（2018）水田環境において農薬散布がトンボ群数に与える直接・間接的な影響

（3）出願特許

特に記載すべき事項はない。

（4）「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 早坂大亮・橋本洗哉（2018）「農薬散布が水田の捕食性昆虫群集に与える直接・間接的な影響」、九州昆虫セミナー（九州・沖縄昆虫研究会第1回例会との合同開催）、佐賀大学、佐賀市、2018年5月12日

（5）マスコミ等への公表・報道等

- 1) 財経新聞（2019年7月25日、Web版、「除草剤がイトトンボ幼虫の個体数を減少させることを実証 農薬リスクを高精度に予測し、より良い使用法が選択可能に」）
- 2) 農協新聞（2019年7月29日、Web版、「除草剤がイトトンボ幼虫の個体数を減少させることを実証 近畿大学」）

- 3) 毎日新聞 (2019年8月8日、全国版朝刊、「除草剤で水草枯れ イトトンボが半減 近大チーム「環境リスク予測」(Web版では8月7日付の掲載)」)
- 4) 科学新聞 (2019年8月23日、「イトトンボ幼虫の個体数現象は水田への除草剤散布が間接的に影響 近畿大などの研究グループが実証」)

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) Hayasaka D, Korenaga T, Sánchez-Bayo F and Goka K (2011) Differences in ecological impacts of systemic insecticides with different physicochemical properties on biocenosis of experimental paddy fields. *Ecotoxicology* 21(1):191-201
- 2) Kasai A, Hayashi T I, Ohnishi H, Suzuki K, Hayasaka D and Goka K (2016) Fipronil application on rice paddy fields reduces densities of common skimmer and scarlet skimmer. *Scientific Reports*. DOI: 10.1038/srep23055
- 3) Van den Brink P J, Baird D J, Baveco H J and Focks A (2013) The use of traits-based approaches and eco(toxico)logical models to advance the ecological risk assessment framework for chemicals. *Integrated Environmental Assessment and Management* 9:e47-e57
- 4) Hashimoto K, Kasai A, Hayasaka D, Goka K and Hayashi TI (2020) Long-term monitoring reveals among-year consistency in the ecological impacts of insecticides on animal communities in paddies. *Ecological Indicators* 113: 106227.

II-3 野外調査による生態影響評価

佐賀大学農学部

徳田 誠

平成29年度～令和元年度研究経費（累計額）：30,680千円（研究経費は間接経費を含む）
（平成29年度：10,400千円、平成30年度：9,880千円、令和元年度：10,400千円）

[要旨]

佐賀平野のクリークやため池10ヶ所においてトンボ類の定期調査及び水草を含む生物群集の調査を実施した。また、農薬使用履歴を収集するとともに、環境中農薬成分を分析した。トンボ生息数の年差分および世代間差分を用いた解析を実施した結果、アオモンイトトンボに対してフィプロニル代謝産物濃度が負の影響を及ぼしていることが判明した。

また、地点間比較の結果、トンボ科の多くの種では植物被度のみが負の影響を及ぼしていたが、アカネ属ではフィプロニル代謝産物濃度が負の影響を及ぼしていた。以上の結果から、浸透移行性殺虫剤が及ぼす影響はトンボの種により異なるものの、一部の種に関しては、フィプロニル代謝産物濃度が個体数の現象に関与している可能性が高いと考えられた。

[キーワード]

浸透移行性殺虫剤、フィプロニル、密度規定要因、イトトンボ亜目、トンボ亜目

1. はじめに

近年、世界的にネオニコチノイド農薬をはじめとする浸透移行性殺虫剤による昆虫群集の衰亡が報告されている。国内においては、とりわけ浸透移行性殺虫剤フィプロニルが箱苗施用剤として普及した2000年代から全国的にアカネ属をはじめとするトンボ類の衰亡が報告されるようになり、室内試験や模擬水田での試験により、フィプロニルやその代謝産物のアカネ属に対する高い殺虫活性も確認されている。しかしながら、野外においては、殺虫剤の直接的な影響以外にも様々な環境要因がトンボ類の密度や多様度を規定していると考えられる。例えば、2000年代以降に限定しても、地球温暖化や外来種の侵入など、トンボ類の多様性に影響すると考えられる要因に劇的な変化が生じており、これらの影響を考慮に入れた解析により、トンボ類に直接作用している要因と交絡要因とを厳密に区別した上で、その因果関係を明らかにする必要がある。また、殺虫剤が直接的でなく、トンボの餌生物の減少を介して間接的にトンボ個体群に影響する可能性や、除草剤による水中植生の消失がトンボの生息場所の減少に繋がっており、個体群密度が低下するといった間接的な効果の影響も考慮に入れる必要がある。

以上の背景を踏まえ、本サブテーマでは、日本有数のクリーク（農業用用水路）網やため池を有しており、かつ、以前からトンボに関する研究が盛んに行われていた佐賀平野を野外におけるトンボ多様度の規定要因を明らかにするためのモデル地域として設定し、3年間の調査を実施することにより、浸透移行性殺虫剤がトンボ類に及ぼす影響を解明することを研究目的とした。

2. 研究開発目的

本サブテーマでは野外におけるトンボ類減少のメカニズムを明らかにするため、佐賀平野のクリークおよびため池を対象として、トンボ類の多様度を規定する要因を解明することを目的とする。これを達成するため、ルートセンサス法によるトンボ成虫の生息状況調査、たも網を用いたトンボ幼虫（ヤゴ）の生息状況調査、水生植物の生育状況調査に加え、水質分析、残留農薬分析、景観構造に関するデータを収集する。加えて、過去から現在までのトンボの多様性動態に関する情報および農薬の使用履歴に関する情報を収集する。一連のデータを踏まえて、サブテーマ4と連携してトンボ個体群動態に影響を及ぼす主要因を解明する。



図2.3.1 佐賀平野におけるトンボ類水生植物、環境要因の調査地点。

調査は晴天の日の午前中から正午前後にかけて実施し、各調査地において約30分間、原則として調査者2名により実施された。トンボの種は飛翔中の個体を目視により判別・同定したが、類似種との区別が紛らわしい場合には、一度捕虫網で捕獲したのち、種を同定した。なお、南方からの飛来種であり、移動性が極めて強いウスバキトンボに関しては、今回の調査対象からは除外した。

また、上述の10ヶ所の調査地において、2017年8月、2018年8月、2019年8月に、浮葉植物、抽水植物、浮水植物の被度を調査した。加えて、2018年3月、2018年5-6月、2018年12月、2019年3月、2019年8月、2020年3月に、上述の10ヶ所の調査地において、トンボ幼虫（ヤゴ）の生息調査を実施した。調査はタモ網を用い、各地点12回から18回の掬い取り調査を実施した。水質の指標として、2019年8月に書く調査地において濁度、溶存酸素（DO）、pHを測定した。GISを用いて各調査地の周囲1 km以内における土地利用状況を解析した。

3. 研究開発方法

①佐賀平野のクリークにおけるトンボ類および水生植物の生息調査：

佐賀平野の10ヶ所の調査地（横武クリーク公園〔佐賀県神埼市神埼町横武〕；神野公園トンボ池〔佐賀県佐賀市神園〕；白石原湿原〔佐賀県佐賀市久保泉町下和泉〕；久保泉工業団地内のため池〔佐賀県佐賀市久保泉町上和泉〕；金立公園いこいの広場〔佐賀県佐賀市金立町金立〕；直鳥クリーク公園〔佐賀県神埼市千代田町直鳥〕；大門村中遺跡〔佐賀県神埼市神埼町永歌〕；ひょうたん島公園〔佐賀県佐賀市兵庫町東渕〕；ざわざわ池公園〔佐賀県佐賀市久保泉町上和泉〕；多布施川河畔公園〔佐賀県佐賀市鍋島町蛸久〕）において、2017年7月から2017年10月、2018年4月から10月、2019年4月から10月にかけて、毎月1回ルートセンサス法によるトンボ成虫の個体数調査を実施した（図2.3.1）。

②佐賀平野における過去のトンボ相および農薬使用履歴の調査：

佐賀平野における過去から現在にいたるトンボ相の変遷とその要因を明らかにするため、これまでのトンボの生息状況に関する文献を網羅的に調査するとともに、過去におけるトンボ類の目撃・採集記録を整理した。また、農薬出荷量に関するデータや防除暦などを参考に、佐賀平野の水田における農薬の使用履歴を調査した。横武クリーク公園に関しては、以前からトンボ教室などのイベントに利用されてきた経緯があり、過去のトンボ相に関する情報がある程度利用可能であるため、「佐賀自然史研究」（佐賀自然史研究会）、「佐賀の昆虫」（佐賀昆虫同好会）、「水辺の友だち」（佐賀トンボ研究会）などの文献を網羅的に調査し、過去におけるトンボ類の目撃・採集記録を整理した。

③調査地における農薬残留実態調査：

上述の10ヶ所の調査地において、2017年8月、2017年10月、2018年8月、2018年10月、2019年10月に水試料、2017年11月、2018年11月、2019年11月に底質試料を採取して250mlの褐色遮光PEボトルに封入し、24時間以内に凍結した。凍結したサンプルは平成理研株式会社へ送付し、農薬成分の濃度分析を依頼した。

分析対象とした薬剤は、2017年がアセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアメトキサム、フィプロニル、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、BPMC、エトフェンプロックス、クロラントラニプロール、シラフルオフエン、ペントキサゾンの14剤、2018年がアセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアメトキサム、フィプロニル、フィプロニル-スルホン（底質試料のみ）、フィプロニル-スルフィド（底質試料のみ）、フィプロニル-デスルフィニル（底質試料のみ）、BPMC、エトフェンプロックス（底質試料のみ）、クロラントラニプロール、シラフルオフエン（底質試料のみ）、ペントキサゾン（水試料のみ）の14剤、2019年がアセタミプリド（底質試料のみ）、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアメトキサム（水試料のみ）、フィプロニル（底質試料のみ）、フィプロニル-スルホン（底質試料のみ）、フィプロニル-スルフィド（底質試料のみ）、フィプロニル-デスルフィニル（底質試料のみ）、BPMC（底質試料のみ）、エトフェンプロックス（底質試料のみ）、クロラントラニプロール、シラフルオフエン（底質試料のみ）、ピメトロジン（底質試料のみ）の14剤である。

加えて、LC-Q-TOF-MSを用いた除草剤成分の網羅的分析を実施した。この分析には、調査地のうち、4カ所（神野公園トンボ池、白石原湿原、久保泉工業団地内のため池、金立公園いこいの広場）で2019年6月から7月にかけて採取した水試料を用いた。

④トンボ多様度規定要因の解析：

一連のデータを用いて、トンボの個体数の年差分や世代間差分に各種環境要因が及ぼす影響を解析した。解析にあたっては、同一年内に明確な二山形の発生ピークが認められ、春世代と秋世代の年2世代と判断されたアオモンイトトンボに関しては、2017年秋世代から2019年秋世代までの5世代分のデータを用いて、同一年内の春世代と秋世代、および、秋世代と翌春世代の対数差分をとり〔増殖率 $=\log((1+N_g)/(1+N_{g-1}))$ ；ただし N_g は g 世代目の個体数、 N_{g-1} は $g-1$ 世代目の個体数〕、増殖率に影響を及ぼす要因を正規分布を仮定した一般化線形モデル（GLM）により解析した。その他の種に関しては調査年内の世代間のピークが不明瞭であったため、調査年次間の対数差分をとって解析した。年次間の解析では2017年から2019年の7-10月分のデータ、または、2018年と2019年の4-10月分のデータを用いた〔増殖率 $=\log((1+N_y)/(1+N_{y-1}))$ ；ただし N_y は y 年の個体数、 N_{y-1} は $y-1$ 年の個体数〕。分析には、環境要因として、各地点における底質中のネオニコチノイド系農薬の総濃度、底質中のフィプロニルおよびその代謝産物の総濃度、濁度、溶存酸素（DO）、pH、周囲500mまたは1km以内の水田面積、森林面積、水域面積、水路長、水路面積、植物被度などを含め、それぞれ単回帰により解析した。

加えて、地点間比較により、上述の環境要因がトンボ個体数や多様度に影響を及ぼす要因を解析した。単回帰で複数の要因が有意であった場合、それらの要因および交互作用を含めた多重回帰分析により規定要因を解析した。

すべての統計解析にはR version 3.6.2を用いた。

4. 結果及び考察

①佐賀平野のクリークにおけるトンボ類および水生植物の生息調査：

GIS解析により調査地の周囲1kmにおける土地利用状況を解析した結果、ほとんどの調査地は周囲の50%以上を水田に囲まれていたが、神野公園トンボ池は周囲のほぼすべてが市街地であり、金立公園いこいの広場は林地、果樹園、市街地などに囲まれており、水田は約20%と少なかった（図4.3.1）。

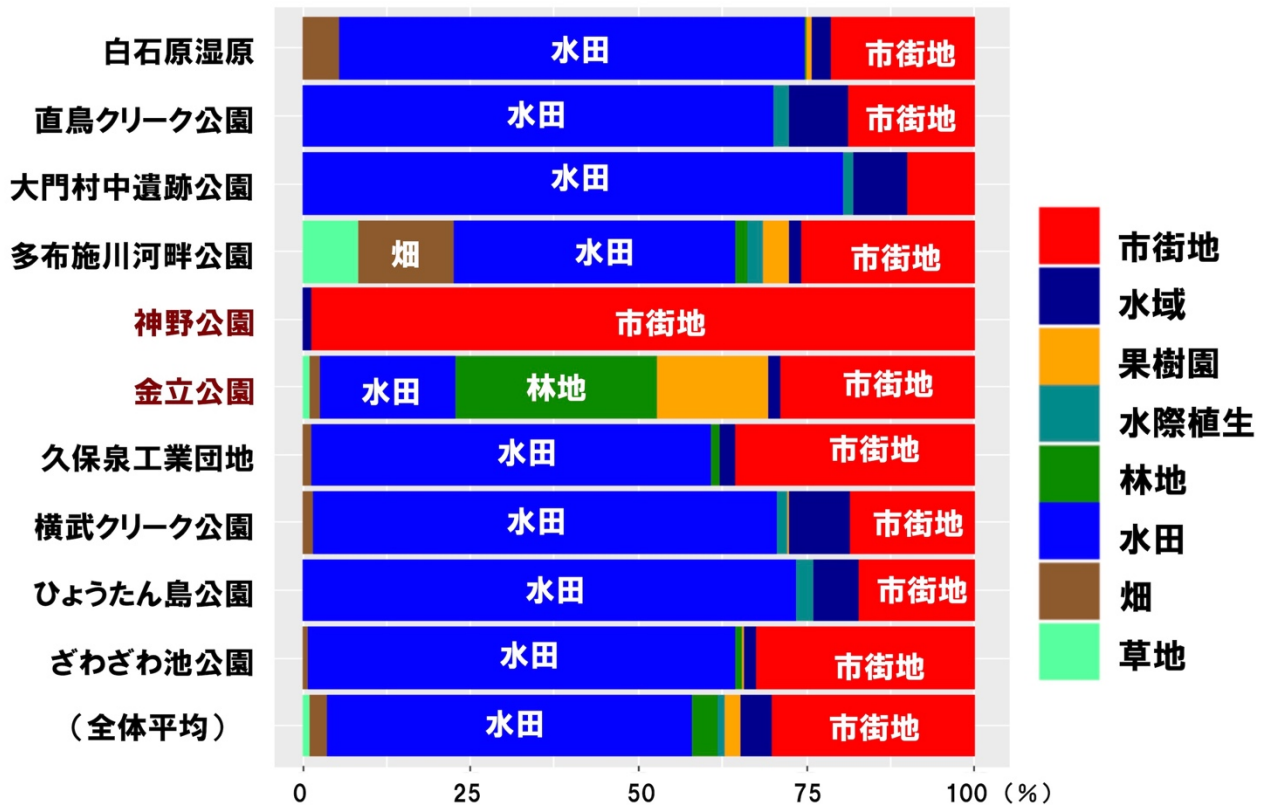


図4.3.1 佐賀平野における調査地の周囲1kmにおける土地利用状況.

今回の3年間の調査により、38種のトンボが確認された。例として2018年4月から8月にかけての10カ所の調査地におけるイトトンボ科の総確認个体数（図4.3.2）、10カ所の調査地における2018年4月から10月にかけてのアオモンイトトンボの発生消長（図4.3.3）、2019年4月から10月にかけての4カ所の調査地における各種の発生消長（図4.3.4）を示す。

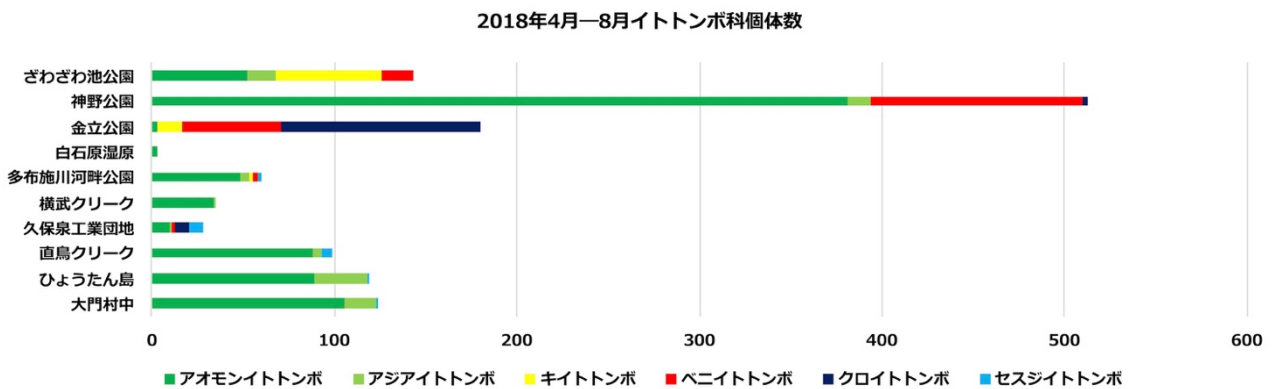


図4.3.2 佐賀平野の10カ所の調査地における2018年4月から8月にかけてのイトトンボ科の総確認个体数.

2018年アオモンイトトンボの発生消長

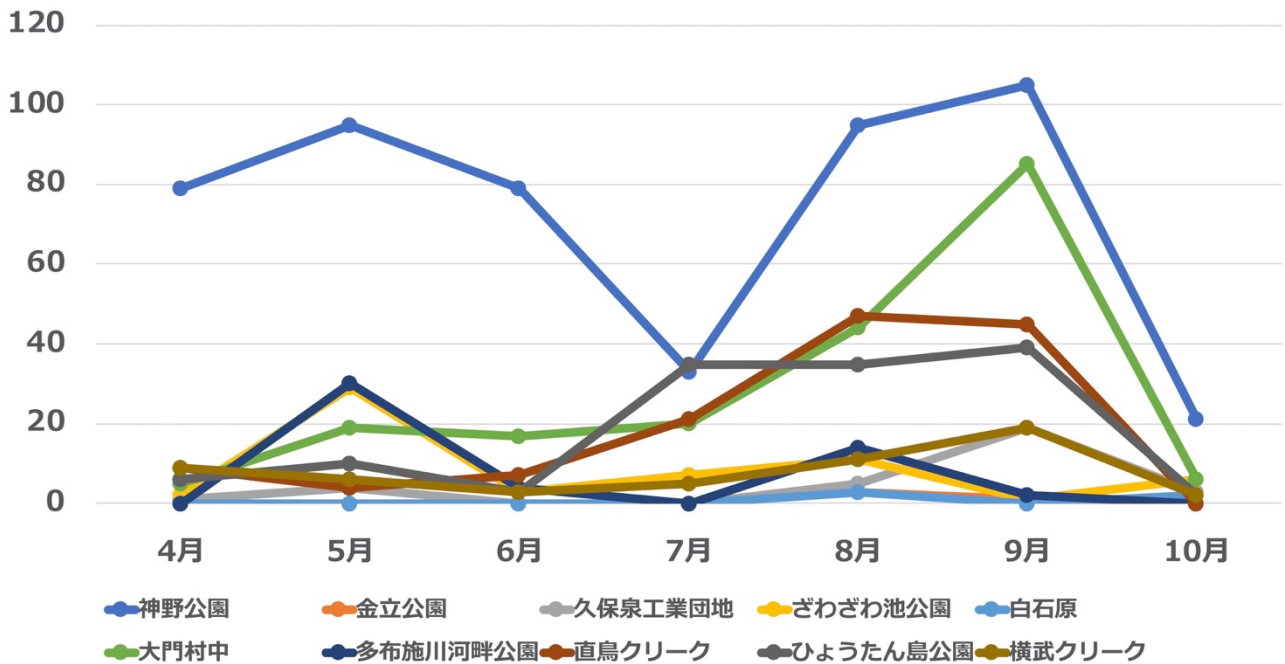


図4.3.3 佐賀平野の10カ所の調査地における2018年のアオモンイトトンボの確認状況。

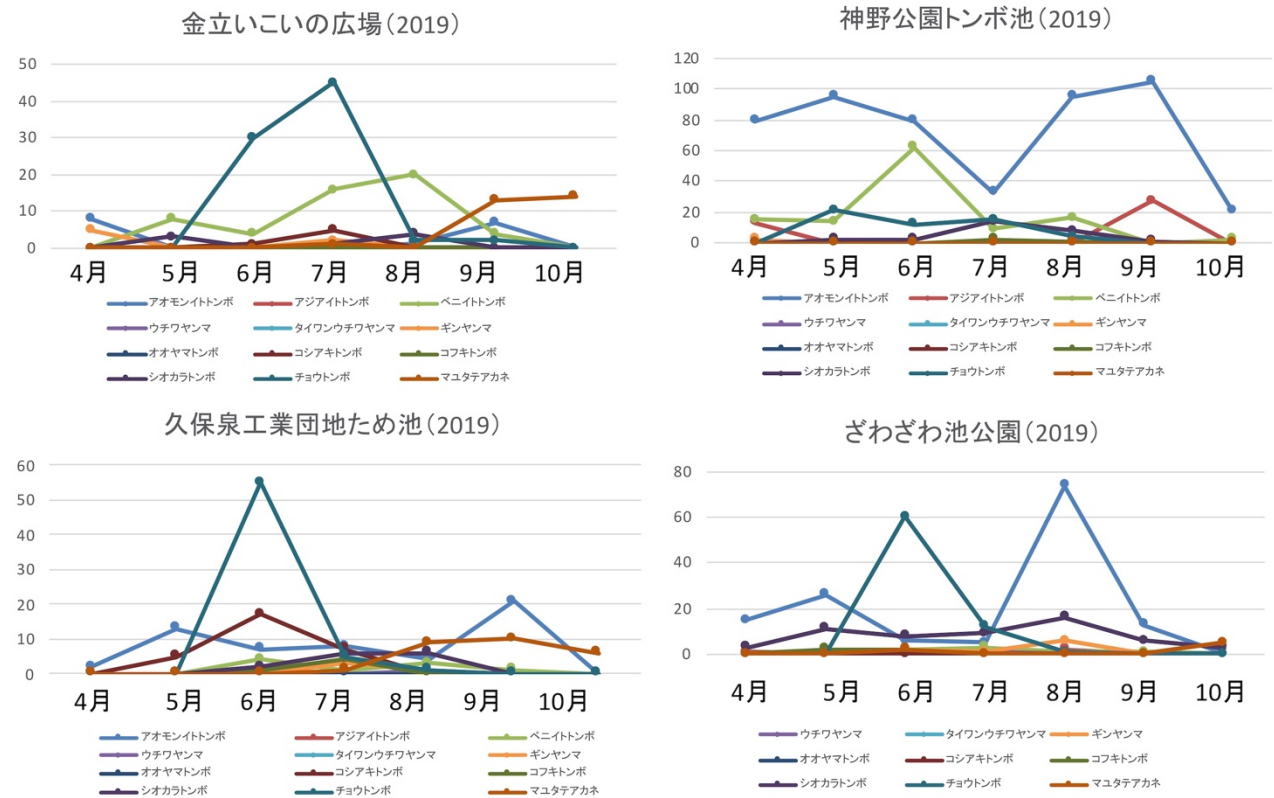


図4.3.4 佐賀平野の4カ所の調査地における2019年の各種トンボ類の確認状況。

とりわけイトトンボ科に関しては、調査地間で個体数や種構成に顕著な差異が見られ、特に春から夏にかけては神野公園トンボ池で最も個体数が多く確認された(図4.3.2)。また、神野公園トンボ池や金立公園いこいの広場では4から5種のイトトンボ科が確認されたのに対し、横武クリーク公園、直鳥クリーク公園、ひょうたん島公園、大門村中遺跡では、アオモンイトトンボとアジアイトトンボの2種

が優占しており、これらしか確認されない年もあった。

すべての地点で生息が確認されたアオモンイトトンボに関しては、地点によって、2山形の発生消長が見られる地点（神野公園トンボ池など）と、春先の個体数が少なく秋にかけて徐々に個体数が増加する地点（横武クリーク公園）に大別された（図4.3.3）。

また、アオモンイトトンボ以外のトンボ類に関しては、確認個体数が総じて少なく、発生のピークが同一年次でも地点間で異なっていた（図4.3.4）。

ヤゴに関しては、いずれの調査でも同様の傾向であり、神野公園トンボ池と金立公園いこいの広場の2ヶ所でイトトンボ亜目が多数確認され、それ以外の地点ではほとんど確認されなかった（図4.3.5）。

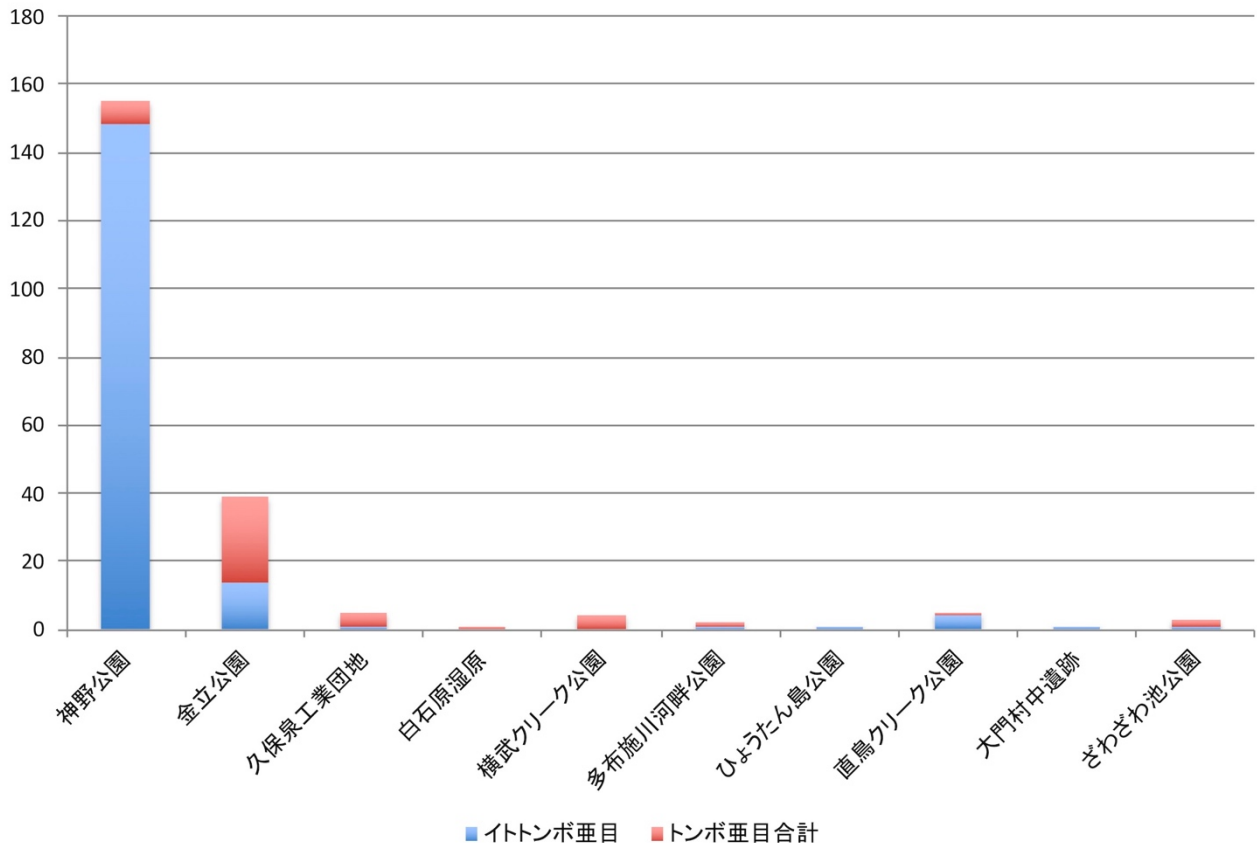


図4.3.5 佐賀平野の10カ所の調査地における2018年5-6月のヤゴの確認個体数(タモ網による掬い取り調査12回の合計値)。可能な限り属から種レベルで同定しているが、本図ではイトトンボ亜目とトンボ亜目の合計値を示す。

一連の調査から、イトトンボ亜目に関して地点間の差異が明瞭に確認され、成虫、幼虫とも、周囲に水田が少ない神野公園トンボ池と金立公園いこいの広場において個体数や種数が多いこと、および、周囲を水田に囲まれた地点では、アオモンイトトンボとアジアイトトンボが優占し、他の種はほとんど確認されないことが明らかになった。トンボ亜目に関しては、成虫の移動性が高いことや、ヤゴの確認個体数が総じて少ないことから、イトトンボ亜目ほど明瞭な際は確認されなかった。

3年間の水生植物の被度（浮水植物を除く）は、横武クリーク公園が0～1%、神野公園トンボ池が70～100%、白石原湿原が50～65%、久保泉工業団地内のため池が0～35%、金立公園いこいの広場が65～100%、直鳥クリーク公園が3～10%、大門村中遺跡が0～2%、ひょうたん島公園が0～10%、ざわざわ池公園が85～95%、多布施川河畔公園10～25%であり、地点間で大きく異なった。とくに周囲を水田に囲まれた地点で被度が低い傾向が見られた。

②佐賀平野における過去のトンボ相および農薬使用履歴の調査：

佐賀平野における過去と現在のトンボ相を比較した結果、多布施川流域においては、2000年からの約15年間の間に、キイロサナエ、コヤマトンボ、マユタテアカネなどが有意に減少し、コオニヤンマ、オオシオカラトンボなどが増加したことが判明した⁴⁾。

また、調査地の1つである横武クリーク公園では、2000年以前には5種のイトトンボ科が確認されていたが、近年の調査ではアオモンイトトンボとアジアイトトンボのみしか確認されなかった（表4.3.1）。

表4.3.1 文献記録¹⁾⁻¹⁰⁾および担当者らの調査による1996年から2017年の7月における横武クリーク公園のトンボ類の確認記録。2016年7月は研究担当者らによる予備調査、2017年7月は本課題による調査結果、それ以外は文献記録¹⁾⁻¹⁰⁾に基づく。

和名	学名	1996年7月	1998年7月	2003年7月	2005年7月	2006年7月	2009年7月	2016年7月	2017年7月
カワトンボ科	Calopterygidae								
ハグロトンボ	<i>Atracopteryx atrata</i>					○		○	○
モノサシトンボ科	Platycnemididae								
モノサシトンボ	<i>Copera annulata</i>	○	○			○			
イトトンボ科	Coenagrionidae								
キイトンボ	<i>Ceriagrion melanurum</i>	○		○		○			
ベニイトンボ	<i>Ceriagrion nipponicum</i>	○	○		○	○			
クロイトンボ	<i>Paracercion calamorum</i>	○	○						
セスジイトンボ	<i>Paracercion hieroglyphicum</i>	○	○						
アオモンイトンボ	<i>Ischnura senegalensis</i>	○	○	○	○				
アジアイトンボ	<i>Ischnura asiatica</i>			○					
ヤンマ科	Aeshnidae								
アオヤンマ	<i>Aeschnophlebia longistigma</i>	○		○					
ネアカヨシヤンマ	<i>Aeschnophlebia anisoptera</i>	○		○				○	○
マルタンヤンマ	<i>Anaciaeschna martini</i>						○	○	
ギンヤンマ	<i>Anax parthenope</i>		○	○	○	○	○		
サナエトンボ科	Gomphidae								
ウチワヤンマ	<i>Snictinogomphus clavatus</i>	○	○		○				○
タイワンウチワヤンマ	<i>Ictinogomphus pertinax</i>						○	○	○
オニヤンマ科	Cordulegastridae								
オニヤンマ	<i>Anotogaster sieboldi</i>					○			
ヤマトンボ科	Macromiidae								
オオヤマトンボ	<i>Epophthalmia elegans</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
トンボ科	Libellulidae								
チョウトンボ	<i>Rhyothemis fuliginosa</i>	○	○	○	○	○	○		
マユタテアカネ	<i>Sympetrum eroticum</i>					○			
コシアキトンボ	<i>Pseudothemis zonata</i>		○			○	○	○	○
コフキトンボ	<i>Deileia phaon</i>	○	○		○	○	○	○	○
ショウジョウトンボ	<i>Crocothemis servilia</i>	○	○		○	○			
ウスバキトンボ	<i>Pantala flavescens</i>	○	○	○	○	○	○	○	○
ハラビロトンボ	<i>Lyrithemis pachygastra</i>				○	○			
シオカラトンボ	<i>Orthetrum albistylum</i>	○	○			○	○		○
オオシオカラトンボ	<i>Orthetrum melania</i>				○				
合計種数		15	14	9	11	15	9	8	9
うちイトトンボ種数		5	4	3	2	2	0	0	0
引用文献		坂本(1996) 中原(2003b) 市場(2005)	中原(1999)	古川(2004) 長峰(2004)	中原(2006)	東(2007)	松本・東(2011)		

農薬の使用履歴に関して、佐賀県内における出荷量および防除暦を確認した結果、佐賀平野においては、水田に使用される主要な箱苗剤が2003年頃を境にイミダクロプリドからフィプロニルへと代わり、さらに2015年頃からピメトロジンへと代わったことが推察された。

③調査地における農薬残留実態調査：

佐賀平野の10カ所の調査地における底質中のフィプロニルおよびその代謝産物の平均値を図4.3.6に示す。3年間を通じて、フィプロニル自体はほとんど検出されなかったが、その代謝産物であるフィプロニル-スルフィドおよびフィプロニル-スルフォンが比較的高濃度で確認された。検出量は年を追うごとに漸減しているように見られた。

なお、ネオニコチノイド系農薬の濃度はフィプロニルの代謝産物に比べると低く、もっとも多く検出されたジノテフランで2018年の底質中に0.17μg/L、その他の剤はいずれの年も0.04μg/L未満であった。

以上より、佐賀平野のクリークやため池に残留している浸透移行性殺虫剤としては、フィプロニルの

代謝産物であるフィプロニル-スルフィドおよびフィプロニル-スルホンが主要な成分であり、箱苗剤がフィプロニルからピメトロジンへと置き換わって4年以上が経過2019年11月の時点でも依然として存在していることが判明した。

LC-Q-TOF-MSを用いた除草剤成分の網羅的分析では、水中の濃度は総じて低く、最も高く検出された地点でも除草剤の総量は0.04 $\mu\text{g/L}$ 未満であった。

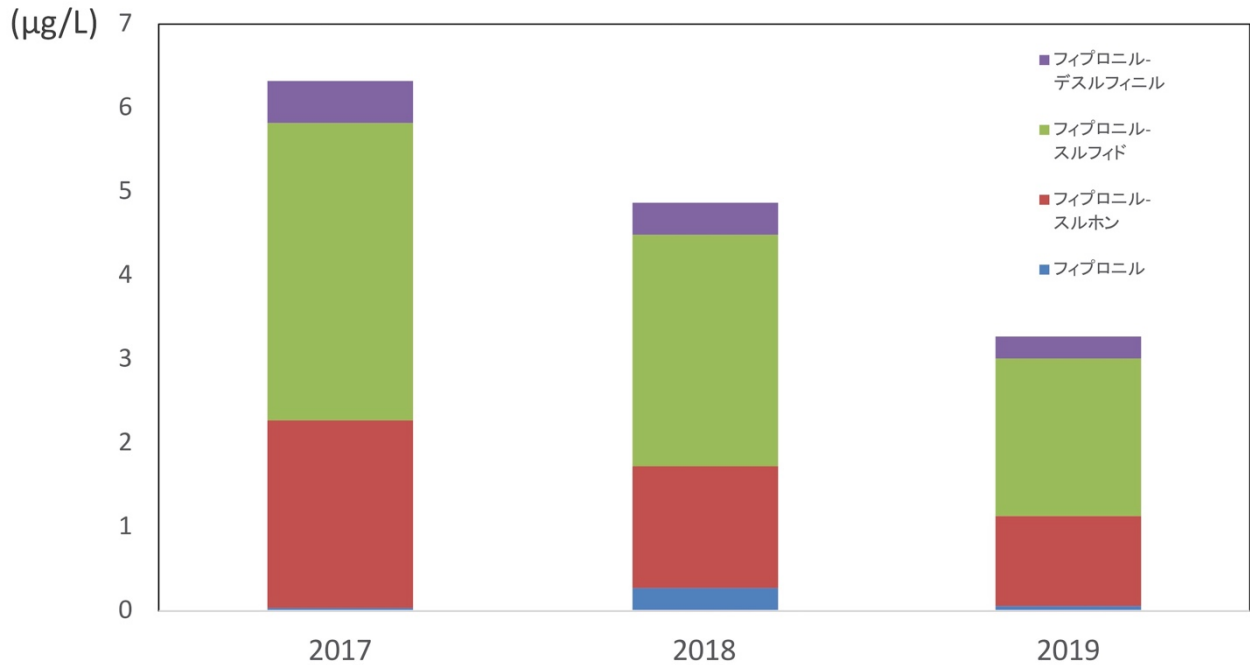


図4.3.6 佐賀平野の10カ所の調査地における2017年から2019年の底質中のフィプロニルおよびその代謝産物の平均濃度(いずれの年も11月に採取した底質を分析)。

⑤ トンボ多様度規定要因の解析：

アオモンイトトンボに関して、春世代と秋世代の対数差分に影響する要因に関して解析した結果、同一年内の春世代と秋世代の差分(図4.3.7(A))および秋世代と翌春世代の差分(図4.3.7(B))のどちらも、フィプロニルおよびその代謝産物の濃度のみが有意に影響していた。本種の個体数は春には地点間で顕著に異なるものの秋にはおそらく地点間の移動が生じるため、その差が不明瞭になる。フィプロニルおよびその代謝産物の濃度が高い場所ほど、秋から翌春にかけての生存率が低いものと考えられた。

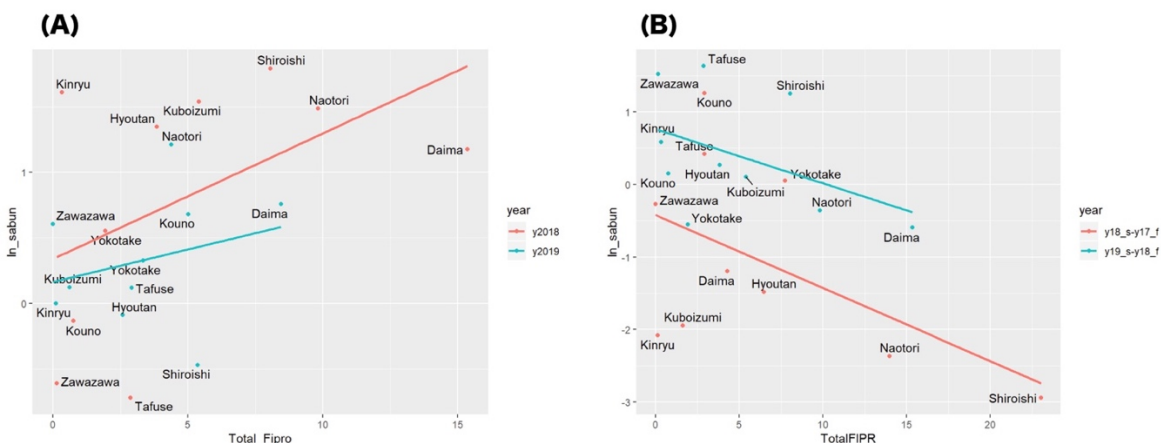


図4.3.7 各調査地における2018年および2019年の底質中のフィプロニルおよびその代謝産物濃度 ($\mu\text{g/L}$) とア

オモンイトトンボの世代間対数差分(A: 秋世代—春世代、B: 翌春世代—秋世代)の関係.

他のトンボ類に関しては、年差分の解析では有意な要因はほとんど検出されず、ベニイトトンボ ($t = 2.61, p = 0.03$) とマユタテアカネ ($t = 3.00, p = 0.01$) でD0の正の影響が検出されたただけであった。

地点間比較の結果、ベニイトトンボやチョウトンボにはフィプロニル系の濃度が負の影響、水生植物被度が生の影響を及ぼしていたのみであった。また、トンボの多様度の年差分についても解析したが、有意に影響している要因は抽出されなかった。これは、今回の調査における3年間の間、年次間でそれぞれの調査地内では環境変化自体がほとんど見られなかったことを反映していると考えられる。

一方、各種の環境要因がトンボ類に及ぼす影響を地点間比較により解析した結果、いずれのトンボ種に関しても、有意差が検出される要因が多数確認された。例えばチョウトンボに対しては、フィプロニル系農薬、ネオニコチノイド系農薬、pH、D0、濁度、周囲の水田面積、周囲のクリーク面積、周囲のクリーク長が有意に負の影響を、総植物被度、抽水植物の被度、周囲の森林面積が有意に正の影響を与えていた。これは、地点間比較の場合、同じ佐賀平野の中であっても個々の要因の差異が大きいことと、それぞれの要因同士が相関（例えば水田割合は、フィプロニル系農薬およびネオニコチノイド系農薬の濃度や濁度、pHと正に相関しており、水生植物被度と負に相関）しているためと考えられた。

そこで、調査地においてもっとも高濃度で検出されたフィプロニル系農薬濃度と一部のトンボ類の生息場所として重要な水生植物被度の2要因およびその交互作用に絞って重回帰分析を用いて解析した結果、ベニイトトンボとチョウトンボにはフィプロニル系農薬濃度が負、植物被度が正の影響を及ぼしていた。これは、両種の個体数衰亡に関してはフィプロニル系農薬と水生植物の消失の両方が寄与していることを示唆している。アジアイトトンボに対してはフィプロニル系農薬濃度、植物被度が共に正の影響を与えているという結果になった。フィプロニル系農薬濃度がなぜ正の影響を及ぼす結果になったのかは今後の検討が必要であるが、本種とアオモンイトトンボはフィプロニル系農薬濃度が比較的高い地点においても確認されるのに対し、ベニイトトンボやキイトトンボ、チョウトンボなど、同じく水生植物基質を幼虫期の生息場所として利用する種に関しては、フィプロニル系農薬濃度が高い地点では確認されないことから、競合種の不在という要因が、直接的に関与しており、見かけ上、フィプロニル系農薬濃度が正の効果をもたらしているという結果が検出された可能性がある。

タイワンウチワヤンマ、ギンヤンマ、オオヤマトンボといった大型種に関しては、重回帰分析の結果、単回帰で有意な負の効果を検出されていたフィプロニル系農薬濃度の有意性が打ち消され、水生植物被度のみが有意な負の影響を与えているという結果になった。これらの種は成虫が広い開放水面がある場所に生息しており、幼虫は底質に生息することから、植物被度が少なく、開放水面の割合が高いことがもっとも重要であり、単回帰でのフィプロニルの有意性は、一種の交絡要因であった可能性が高い。コシアキトンボやコフキトンボといった中型で幼虫が底質に生息する種でも同様で、重回帰分析によりフィプロニル系農薬濃度の有意性が打ち消され、植物被度が負の影響を及ぼしているという結果であったが、これら2種では有意な交互作用が確認された。したがって、例えば周囲の森林面積など、他の環境要因も生息密度に影響している可能性がある。

注目すべきは、同様に底質に生息する種のうち、マユタテアカネに関しては、重回帰分析の結果、上記の種とは対照的に、フィプロニル系農薬濃度の有意な負の影響が残り、植物被度の有意性が消失した。したがって、本種に関しては、他のアカネ属同様、フィプロニル系農薬が直接的に個体群の衰亡に影響している可能性が高いと考えられた。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

浸透移行性殺虫剤の中でもフィプロニルおよびその代謝産物が一部のトンボ類に対して負の影響を及ぼしていることを自然生態系レベルで明らかにした。具体的には、アオモンイトトンボの生息密度に関してフィプロニルおよびその代謝産物の濃度が統計的に有意な負の影響を及ぼしていることを、調査地

点内の世代間対数差分を用いた解析により、交絡要因の影響を限りなく排除した上で実証した。加えて、ベニイトトンボ、チョウトンボ、マユタテアカネに関しても、地点間比較によりフィプロニルおよびその代謝産物が負の影響を与えている可能性が高いことが判明した。一方で、タイワンウチワヤンマ、ギンヤンマ、オオヤマトンボ、コシアキトンボ、コフキトンボといった種に関しては、水生植物の被度など他の要因の影響が強く、フィプロニルおよびその代謝産物の濃度の影響は統計的には有意ではなかった。

以上のように、浸透移行性殺虫剤が及ぼす影響はトンボ類の種によって異なっており、イトトンボ科やアカネ属で相対的に負の影響が大きく、アカネ属以外のトンボ科では相対的に小さいことが明らかになった。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本サブテーマで解析に利用した世代間の個体数対数差分および年次間の個体数対数差分を用いた解析法は、地点間で異なる様々な交絡要因の影響を限りなく排除した解析であり、特定の環境要因が生物種の密度や多様度に及ぼす影響を解析する上で有用であると考えられる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

1) Kita A, Nakahara M and Tokuda M (2020) Changes in Odonata abundance between 2000 and 2015-16 in Saga Plain, northern Kyushu, Japan. *Journal of Insect Conservation* 24: 575-583.

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 大石寛貴・喜多章仁・徳田誠：2017年度日本トンボ学会大会（2017）佐賀平野の止水域におけるトンボ相の地点間比較
- 2) 大石寛貴・喜多章仁・尋木優平・池上真木彦・降幡駿介・五箇公一・徳田 誠（2018）佐賀平野においてイトトンボ類の個体数に影響を及ぼす環境要因．日本生態学会第65回大会
- 3) 大石寛貴・尋木 優平・林 岳彦・池上真木彦・五箇公一・徳田 誠（2019）佐賀平野におけるトンボ群集の種構成および密度に影響を与える環境要因．日本生態学会第66回大会
- 4) Kita, A., Nakahara, M. and Tokuda, M. (2019) Changes in Odonata densities in Saga Plain, northern Kyushu, Japan before and after the application of fipronil in paddy fields. *International Congress of Odonatology 2019*

- 5) 尋木優平・大石寛貴・中西康介・林 岳彦・池上真木彦・五箇公一・徳田 誠 (2019) 佐賀平野においてトンボ群集に影響を及ぼす環境要因. 日本昆虫学会第79回大会
- 6) 大場裕太郎・尋木優平・大石寛貴・中西康介・林 岳彦・池上真木彦・五箇公一・徳田 誠 (2020) 佐賀平野におけるトンボ個体群の減少に影響を及ぼす環境要因. 日本生態学会第67回大会

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 徳田 誠 (2017) いきもの多様性 (たようせい) について考える、自然ふれあい観察会 in 那珂川「ビオトープ見守り隊」、福岡県五ヶ山ダム建設事務所
- 2) 徳田 誠 (2017) クリークの生物多様性、日本建築学会 建築文化週間2017シンポジウム「クリークのまち“再発見”」、佐賀市歴史民俗館・旧古賀銀行
- 3) 徳田 誠 (2018) 佐賀平野のクリークにおける生物多様性、平成30年度第3回東よか干潟ラムサールクラブ、東与賀農村環境改善センター
- 4) 徳田 誠 (2018) 嘉瀬川ダムと音無湿地環境について、音無地区自然観察会&嘉瀬川ダム見学会、武雄河川事務所嘉瀬川ダム管理支所
- 5) 徳田 誠 (2018) 佐賀・有明地域の生物多様性を考える、連続講座佐賀学第VII期『生物の多様性を考える』(第2回)、武雄東洋館
- 6) 徳田 誠 (2019) 佐賀平野のトンボ類はなぜ減少しているのか、佐賀環境フォーラム、佐賀大学
- 7) 徳田 誠 (2019) 農薬によるトンボ類生態影響調査、佐賀環境フォーラム体験講座・環境学習会、佐賀市ひょうたん島公園および神野公園
- 8) 徳田 誠 (2019) 有明海と佐賀平野のクリークの生き物たち、WWFジャパン観察会、佐賀県立宇宙科学館ゆめぎんが
- 9) 徳田 誠 (2019) 佐賀の生き物たちの過去・現在・未来、佐賀大学の授業を受けてみよう (佐賀大学教育学部附属中学校育友会行事)、佐賀大学

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) 古川 雅通 (2004) 第3回トンボ教室報告. 水辺の友だち(15):571.
- 2) 東 和敬 (2007) 第4回トンボ教室報告「檜原湿原と横武クリーク公園のトンボ観察」. 水辺の友だち(18):11~16.
- 3) 市場 利哉 (2005) 佐賀県内で採集 観察したトンボ類. 佐賀の昆虫(41):81~83.
- 4) Kita A, Nakahara M and Tokuda M (2020) Changes in Odonata abundance between 2000 and 2015-16 in Saga Plain, northern Kyushu, Japan. Journal of Insect Conservation (印刷中)
- 5) 松本 重陽・東 和敬 (2011) 2009年第2回トンボ教室「多布施川の自然観察会」. 水辺の友だち(21):4~11.
- 6) 長峰 明宏 (2004) 2003年に採集したトンボ. 水辺の友だち(15):590~593.
- 7) 中原 正登 (1999) 1998年度第3回例会報告. 水辺の友だち(11):390~392.

- 8) 中原 正登 (2003) 1996年から2002年に佐賀県内で採集したトンボの記録. 佐賀自然史研究会 (9):21~27.
- 9) 中原 正登 (2006) 第3回トンボ教室報告. 水辺の友だち (16):613.
- 10) 坂本 兼吾 (1996) 活動報告 第7回観察会テーマ「佐賀平野のクリークの生き物たち」. 佐賀自然史研究会News Letter (13):2-3.

II-4 生態影響の因果推論手法開発

国立研究開発法人国立環境研究所環境リスク・健康研究センター生態毒性研究室 林岳彦
 国立研究開発法人国立環境研究所環境リスク・健康研究センター環境リスク管理戦略研究室 横溝裕行
 <研究協力者>
 国立研究開発法人国立環境研究所環境リスク・健康研究センター生態毒性研究室 特別研究員 中西康介

平成29年度～令和元年度研究経費（累計額）：23,010千円（研究経費は間接経費を含む）
 （平成29年度：7,800千円、平成30年度：7,410千円、令和元年度：7,800千円）

[要旨]

一般に、農薬が生物種の個体群に与えている因果的な影響を推定するのは簡単なことではない。特に、農薬施用量の増減と、野外調査データなどで見られる生物種の個体群動態等の消長パターンの関連性が、単なる相関関係なのか、それとも因果関係なのかを分析する手法は生態学や環境毒性学の分野では現在まで殆ど開発されてこなかった。本サブテーマでは、(1)既往知見のレビューによる因果性の推定、(2)調査観察データに基づく統計的因果推論による因果効果の推定、(3)個体群モデルを用いたシミュレーションに基づく因果効果の推定、という3つの異なるアプローチの因果推論手法を開発し解析を行った。その結果、Hillの因果性基準に基づいた既往知見のスコアリングにより、アキアカネの減少と殺虫剤影響の間に因果関係がある可能性が非常に高いことが示された。また、県別用途別農薬使用量の長期データと、アキアカネの長期モニタリングデータを用いた統計的因果推論手法に基づく解析から、育苗箱施用殺虫剤の使用がアキアカネの個体群密度に有意な負の影響を与えていることが示された。さらに、各要因がもたらす影響の大きさの個体群モデルによるシミュレーション解析から、90年代のアキアカネの激減は、育苗箱施用殺虫剤による死亡率の上昇と、中干し・乾田化等に起因する死亡率の上昇、の2つの要因の組み合わせにより生じたことが示唆された。

[キーワード]

統計的因果推論、Hillの因果性基準、モニタリングデータ、個体群モデル、乾田化

1. はじめに

一般に、農薬が生物種の個体群動態に与えている因果的な影響を推定するのは簡単なことではない。特に、農薬施用量の増減と、野外調査データなどで見られる生物種の個体群動態等の消長パターンの関連性が、単なる相関関係なのか、それとも因果関係なのかを分析する手法は生態学や環境毒性学の分野では現在まで殆ど開発されてこなかった。もし農薬の生態リスクを評価・管理する上で相関関係と因果関係を混同してしまうと、本当の原因でないものに対してリスク管理のための人的・経済的資源を浪費してしまう上に、本当の原因の方が見逃されてしまうなどの大きな弊害が生じてしまいかねない。近年、疫学や社会科学の分野では因果推論のための解析手法の発展が急速に進んでいる¹⁾²⁾³⁾。これらの因果推論手法を生態学や環境毒性学の分野に応用することは、農薬等が生態系に与える因果的影響のより適切な分析を可能とし、その結果としてより合理的かつ効率的なリスク管理に繋がると期待される。

2. 研究開発目的

本研究ではネオニコチノイド系薬剤等の使用がアキアカネ個体群の減少に与える因果的影響を評価するために、以下の研究を行った。

- ① Hillの因果性基準の観点からの既往データの整理と総合的評価
- ② 1989年以降の主要な育苗箱施用薬剤の県別用途別使用量の推定

- ③ 北陸4県における2009-2016年の野外調査データを用いた殺虫剤の因果的影響の推定
- ④ アキアカネ激滅に対する地球温暖化原因説の検証
- ⑤ 個体群モデルによるアキアカネ激滅の要因解析

このうち、①は様々な種類の既往データに基づく因果性の統合的評価であり、研究を始める段階での論点と情報の整理の目的も兼ねて行った。②③④は育苗箱施用薬剤の県別使用量やアキアカネの野外モニタリング等のデータセットを新たに構築し、農薬や気温による因果的影響の統計データに基づく評価を行うことを目的とした。⑤はアキアカネの生活史特性を考慮した個体群モデルを開発し、シミュレーションに基づく諸要因の因果的影響の解析を行うことを目的とした。

3. 研究開発方法

①Hillの因果性基準の観点からの既往データの整理と総合的評価

国内外の既往データの収集と整理を行い、「1990年代のアカトンボ類の激滅の要因はネオニコチノイド系農薬類（フィプロニルを含む）である」という仮説に対してHillの因果性基準の観点から評価した。Hillの因果性基準⁴⁾は、因果関係を判断するための基準として疫学研究で利用されてきたものであり、近年ではネオニコチノイド系農薬と水生生物やミツバチ減少との因果性の検討にも適用例がある⁵⁾。本研究では、Hill基準の9項目（表3.4.1）について、+/-3段階でスコア付けすることで評価した（各項目の詳細な説明はNakanishi⁶⁾を参照のこと）。各項目について、証拠としての可能性が高い〜ほぼ確実の場合は3、やや高い〜高い場合は2、どちらかといえば高い場合は1を、それぞれ仮説に対して肯定的な場合は+、否定的な場合は-のスコアを付けた。証拠が不十分で判断ができない場合は0とした。

表3.4.1 Hillの因果性基準9項目の概説

基準	概要
(1) 強固性	要因と結果が強く関連するか
(2) 一致性	異なる研究者・場所・環境・時間で関連性が観察されるか
(3) 特異性	特定の要因から特定の結果が生じるか
(4) 時間性	要因が結果に先行するか
(5) 生物学的用量関係	要因の程度が大きくなるほど結果の頻度も高くなるか
(6) 説得性	関連性を支持する生物学的説得性があるか
(7) 整合性	既存の知見と矛盾しないか
(8) 実験的証拠	関連性を支持する実験的研究があるか
(9) 類似性	類似した関連性の例があるか

②1989年以降の主要な箱施用農薬の用途別使用量の推定

谷地ら⁷⁾の手法を用い、「農薬要覧」の都道府県別製剤別出荷量のデータおよび「農薬総覧」等の適用一覧のデータから水稻育苗箱施用農薬として用いられる殺虫剤原体の1989年から2017年までの用途別使用量（本田散布、育苗箱施用、航空散布、畑・果樹、その他）を都道府県ごとに推定した⁸⁾。対象とした農薬は、育苗箱施用剤としての出荷量の多かった9剤の殺虫剤（カルタップ、ベンフラカルブ、カルボスルファン、イミダクロプリド、ジノテフラン、クロチアニジン、チアメトキサム、フィプロニル、クロラントラニリプロール）である。

③北陸4県における2009-2016年の野外調査データを用いた殺虫剤の因果的影響の推定

北陸4県において2009年から2016年にかけて、自動車を用いたルートセンサスによって得られたアキア

カネ成虫の個体数のモニタリングデータ（上田，未発表）を年次比較可能な形式に整理した。次に、既存の知見から因果ダイアグラムを作成した（図3.4.1）。

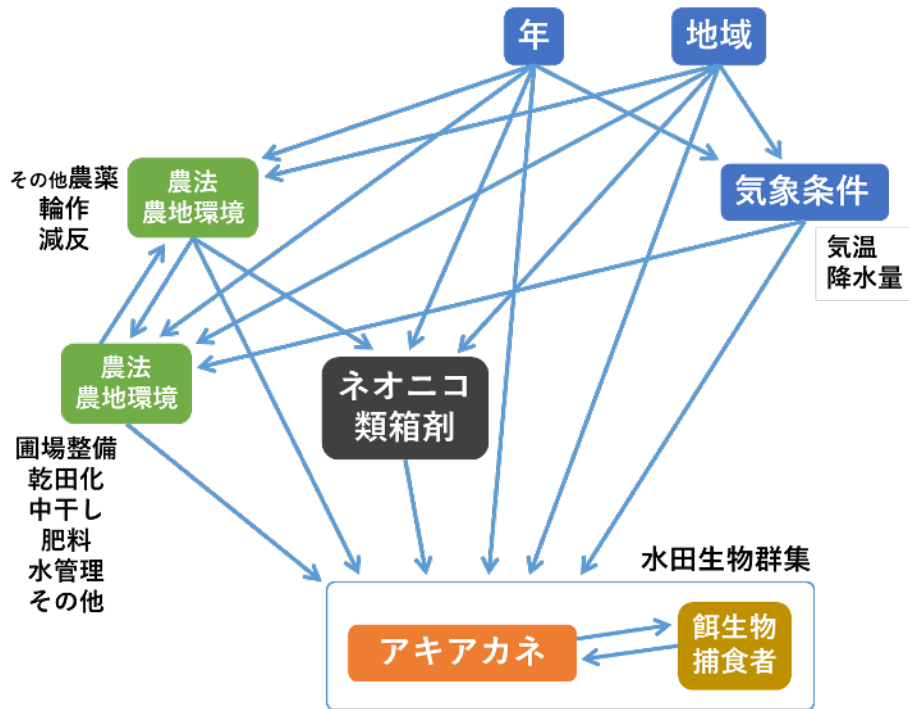


図3.4.1 育苗箱施用殺虫剤がアキアカネ個体群に与える影響に関する因果ダイアグラム

図3.4.1の因果ダイアグラムから、因果効果の推定における変数選択の理論的基準となるバックドア基準³⁾に基づき、殺虫剤使用（普及率）とアキアカネ個体群の両方に影響を与える交絡要因を抽出した。殺虫剤9剤の育苗箱普及率の変動とアキアカネ個体数との関係を、調整すべき交絡要因を組み入れた以下の重回帰モデルで解析した。

$$\lambda_{j,i,t} = \alpha + \beta_{TOTAL} \Delta INSE_{TOTAL,j,t} + \gamma_{YEAR_t} YEAR + \varepsilon_{j,i,t}$$

ここで、 $\lambda_{j,i,t}$ は年 t 、県 j 、モニタリングルート i における集団増殖率、 $\Delta INSE_{TOTAL,j,t}$ は年 t 、県 j における農薬普及率の総和の年差分、 $YEAR$ は年効果を表すダミー変数、 α は回帰モデルの切片、 $\varepsilon_{j,i,t}$ は年 t 、県 j 、モニタリングルート i における誤差項である。尚、解析においては複数のやり方で殺虫剤をまとめて一つの変数として解析を実施した⁸⁾が、本報告書では紙幅の制限のため殺虫剤を表す変数として「ネオニコチノイド系薬剤+フィプロニルの普及率の総和」および「殺虫剤9剤の普及率の総和」の結果のみを示した。

④アキアカネ激減に対する温暖化原因説の検証

アキアカネは夏季に冷涼な山地帯で越夏することが知られているため、温暖化が育苗箱施用殺虫剤の他にアキアカネ激減の主要因のひとつとして指摘されることがある。そこで、過去の気象データから夏季の気温値を計算し、富山県のアキアカネの個体数データ⁹⁾との関連を解析した。具体的には、気温のトレンドと個体数の激減のトレンドに整合性があるかを激減前後での気温の差分等の指標を比較することにより検討した。また、気温データと個体群密度の増減の間の統計的関連性について、個体群密度を目的変数、気温を説明変数とした回帰モデルを用いて推定した。さらに、回帰モデルから得られた偏回帰係数を用いて、気温の影響だけを反映させた個体数密度の増減の簡易モデルを作成し、気温の影響だけを考慮した場合の個体数密度の変動のシミュレーションによる計算を行い、計算値と観測値の比較を行った。

⑥ 個体群モデルによるアキアカネ激滅の評価

育苗箱施用の殺虫剤がアキアカネの個体群動態に与える因果的影響を推定するために、アキアカネの生活史特性を考慮した個体群モデルの開発を行った。具体的には、各生活史へ強い影響を与える要素を組み込みつつ重要な要素を数式の形で整理・統合することにより、以下の式で表される個体群モデルを構築した。

$$N_t = N_{t-1} \times r \times (1 - M_{DRY} \times CR_t) \times (1 - \Sigma[UR_{i,t} \times TOX_i])$$

ここで、 N_t は t 年における個体群密度、 r は農薬および乾田化等の影響がないときの個体群増殖率、 M_{DRY} は乾田化に起因する死亡率、 CR_t は t 年における圃場整備率、 $UR_{i,t}$ は薬剤 i の t 年における普及率、 TOX_i は薬剤 i による死亡率である。

上記の式において、 $(1 - \Sigma[UR_{i,t} \times TOX_i])$ は薬剤による死亡率を表現する項である。 TOX_i の値は、既往の実水田での調査データやライシメーター試験等の既往知見を参照し値を決定した。既往のデータがない薬剤については同グループの他の薬剤の値を使用した。具体的には、各グループの薬剤に対して与えた TOX_i の値として、フィプロニルは1、ネオニコチノイド系薬剤は0.8、有機リン系薬剤は0.8、カルバニル系薬剤は0、カーバメート系薬剤は0.5と設定した。また、クロラントラニプロールについては類似の作用機序をもつ薬剤のデータが得られなかったため、毒性影響のパラメータを取得するために、実際の水田において対照区と殺虫剤施用区を設定した実験を行った。

$(1 - M_{DRY} \times CR_t)$ は、卵～羽化期死亡の大きな上昇の原因となる中干し・乾田化に起因する死亡率を表現する項である。中干し時の死亡率の情報を含む複数の既往研究から M_{DRY} の値として0.8を設定した。また、 CR_t は富山県における圃場整備率の時系列データを用いた。これらの値を用いたときの中干し・乾田化等による死亡率の計算値を図3.4.2に示す。

N_t の値については、相対個体数密度を表すものとして初期値として $N_0 = 1$ を設定した。 r については、アキアカネの激滅のパターンが生じる1990年代以前には大きな個体群の増減トレンドがみられないことから、1990年時点での増殖率は概ね $1 = r \times (1 - M_{DRY} \times CR_t) \times (1 - \Sigma[UR_{i,t} \times TOX_i])$ となる平衡状態にあるものと仮定した。この仮定に基づき、1990年時点での各パラメータ値を用いたときに上記の等式を満たす $r = 2.66$ の値を r のパラメータ値として設定した。この値は、トンボの生態的特性から判断して妥当な範囲内の数値と考えられた。

開発した上記の個体群モデルおよびパラメータの設定値をもとに、仮想的にパラメータを変化させた一連のシミュレーションを行うことにより、アキアカネの激滅に対する殺虫剤や中干し等の各要因の寄与度を評価した。

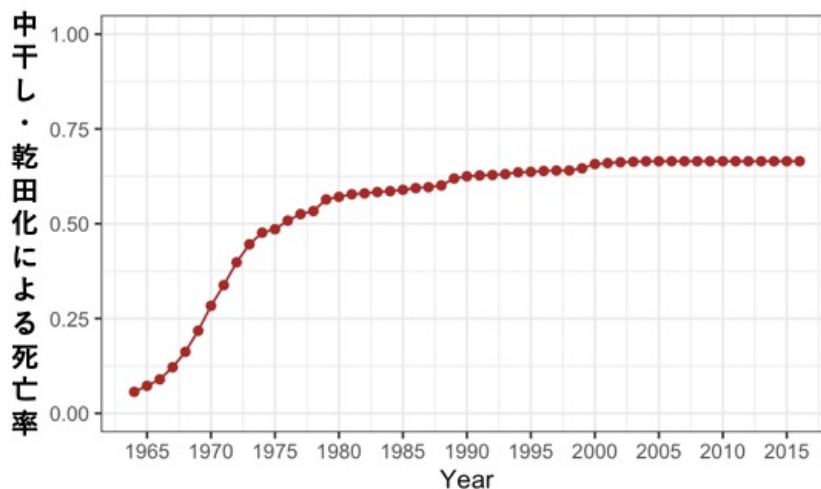


図3.4.2 富山の圃場整備率データを用いて計算した中干し・乾田化による死亡率の変化

4. 結果及び考察

① Hillの因果性基準の観点からの既往データの整理と総合的評価

トンボ類およびその他水生生物に対するネオニコチノイド系農薬類の影響に関する文献123件を収集・整理し、そこから得られた知見をもとにネオニコチノイド系農薬類の因果的影響の強さについてHillの因果性基準に基づきスコア付けを行った(図4.4.1)。その結果、すべての軸について「ネオニコチノイド系農薬がトンボの激減を引き起こした原因である」という仮説を支持する証拠が得られ、反証は見出されなかった。特に強固性、説得性、整合性が最高スコアとなった。アカネ属に対する実験・観察例ではネオニコチノイド系農薬類の強い負の影響が示されており、特にフィプロニルの毒性が高いことが一貫して示されていることがわかった。一方、中干し、除草剤やその他の薬剤の負の影響も認められたため、特異性のスコアは強固性等より1ランク低くなった。また、個体群動態のデータ不足のため、時間性や生物学的用量関係のスコアは低かった。以上のことから、ネオニコチノイド系農薬類の育苗箱施用が近年のアカネ減少の主要な要因の1つであった可能性は非常に高いと評価された。しかし、他の要因も減少の主要な要因となっていた可能性は排除できなかった。

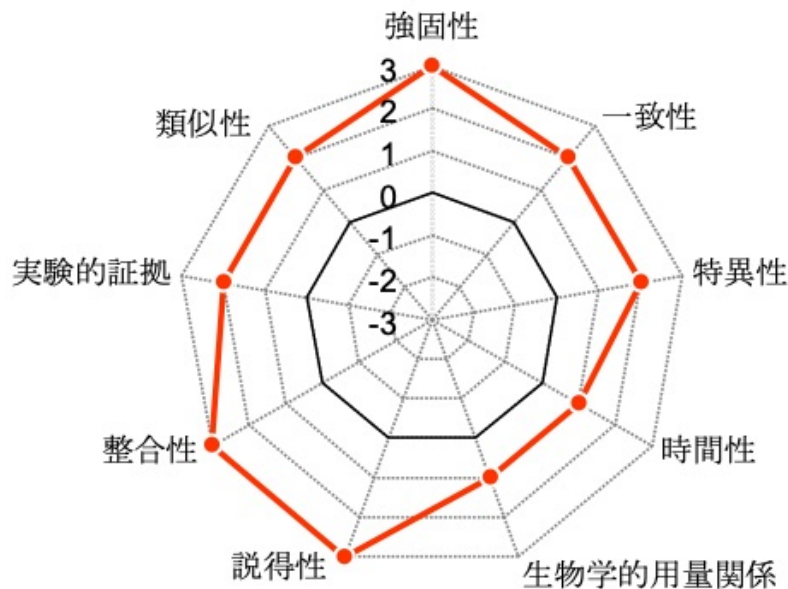


図4.4.1 Hillの因果性基準に基づくスコア付けの結果

② 1989年以降の主要な育苗箱施用農薬の県別用途別使用量の推定

殺虫剤9剤についての使用量推定を都道府県ごとに行った。図4.4.2に富山県における殺虫剤育苗箱施用の普及率(水稲作付面積あたりの使用面積割合)を示した。富山県では、イミダクロプリドは1993年、フィプロニルは1996年から出荷され、その後特にフィプロニルの普及率が急増した。2000年代以降はジノテフランやクロチアニジンなどの普及率も増加した。フィプロニルの普及率は2000年代後半から減少したが、イミダクロプリドは2000年代後半から再び増加した。2010年代はイミダクロプリドに次いでクロラントラニリプロールが主要な剤となった。

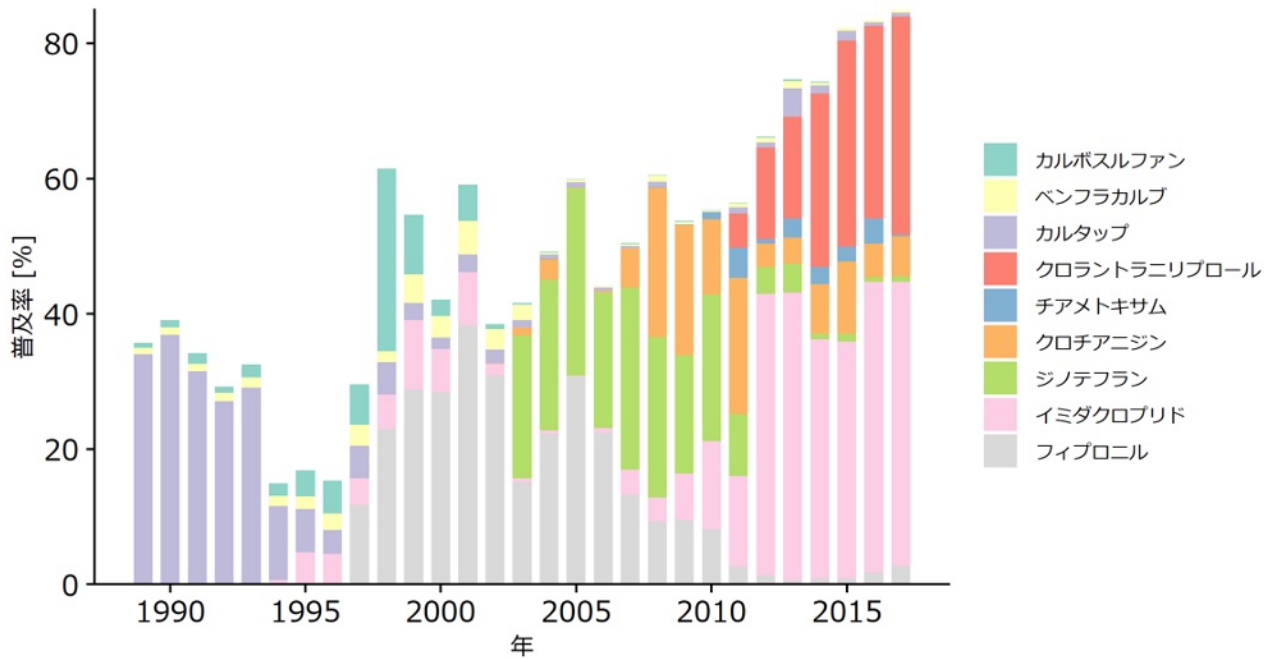


図4.4.2 富山県における殺虫剤9原体の水稲育苗箱施用普及率の推定値

さらに、推定した各年の育苗箱使用量を用いて、富山県での1993年から2011年までの長期モニタリングにおけるアキアカネの個体数（二橋，2012）との関係を調べた。その結果、フィプロニルの育苗箱施用普及率の年差分とアキアカネ個体数の年増加率との間に有意な負の関係がみられた（図4.4.3）。負の有意な関係が検出されたのは殺虫剤9剤のうちフィプロニルのみであった。

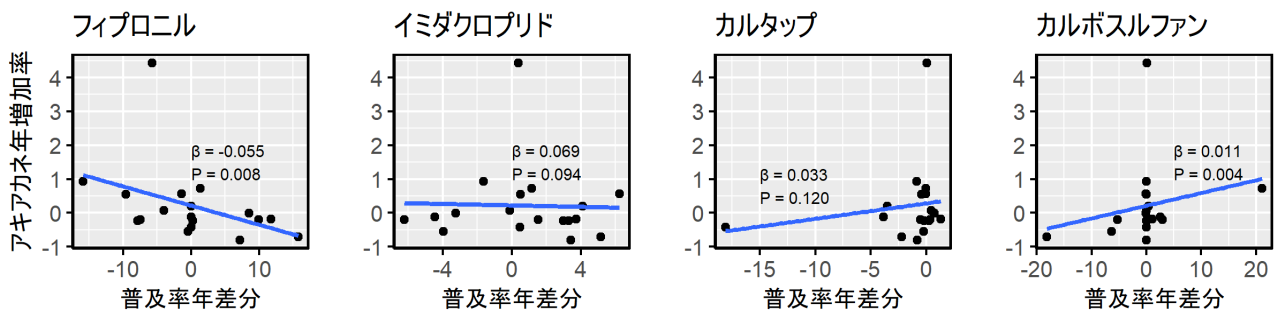


図4.4.3 富山県における1993年から2011年までの殺虫剤4種の育苗箱施用普及率とアキアカネ個体数（二橋，2012）との関係（図中の傾きβおよびP値は重回帰分析によるもの）

③ 北陸4県における2009-2016年の野外調査データを用いた殺虫剤の因果的影響の推定

北陸4県における2009年から2016年の殺虫剤9種の育苗箱施用普及率の年差分とアキアカネ個体数の年増加率との関係を、交絡要因を調整した上で重回帰分析を行った結果、殺虫剤使用の指標として「殺虫剤全体の普及率の総和」がアキアカネの個体群増加率を有意に低下させていることが示された（図4.4.4の右図；図中のP値は重回帰分析によるもの）。また、「ネオニコチノイド系農薬+フィプロニルの普及率」を用いた場合にもアキアカネの個体群増加率を（5%有意水準をわずかに超えるが）低下させている傾向が示された。

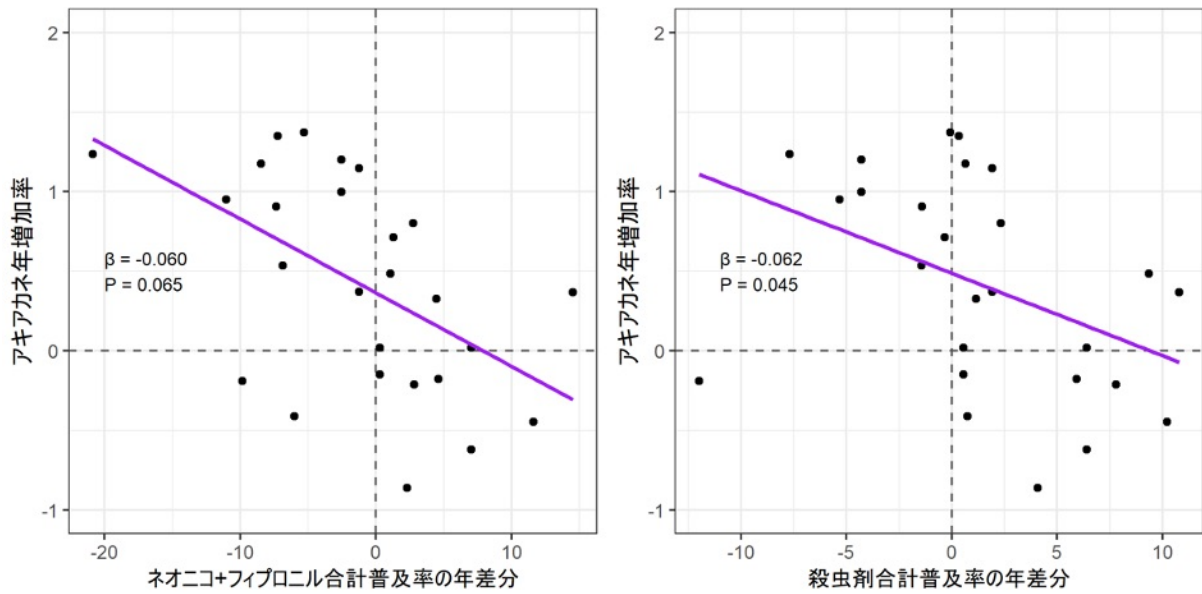


図4.4.4 北陸4県における殺虫剤の育苗箱施用普及率とアキアカネ増加率との関係

④ アキアカネ激減に対する地球温暖化原因説の検証

アキアカネが激減した1990年代の気温の上昇は年次変動幅の範囲内であり、アキアカネ個体群の減少パターンとは関連がみられなかった（図4.4.5）。一方、回帰分析の結果からは、気温と個体群動態との間に負の相関がみられた（図4.4.6）。しかし、温度影響のみを考慮した簡易モデルによる数値計算の結果は、実際の観測結果からは大きく乖離し、気温の影響だけでは個体数の激減を再現できなかった（図4.4.7）。そのため、地球温暖化による気温の変化は1990年代のアキアカネの激減の主要因とは考えられないと結論した。

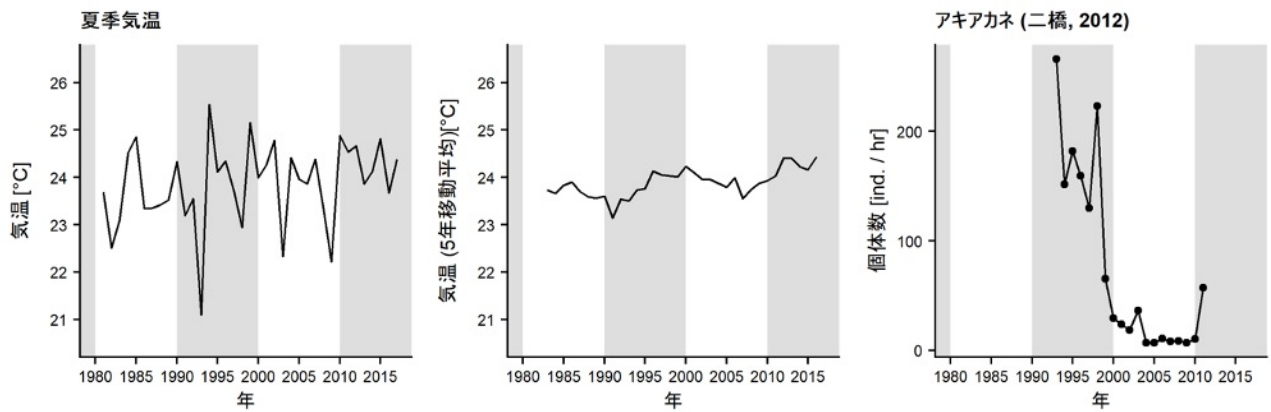


図4.4.5 富山県における夏季気温（7～8月平均気温の90パーセンタイル値）の年次変動とアキアカネの個体数変動

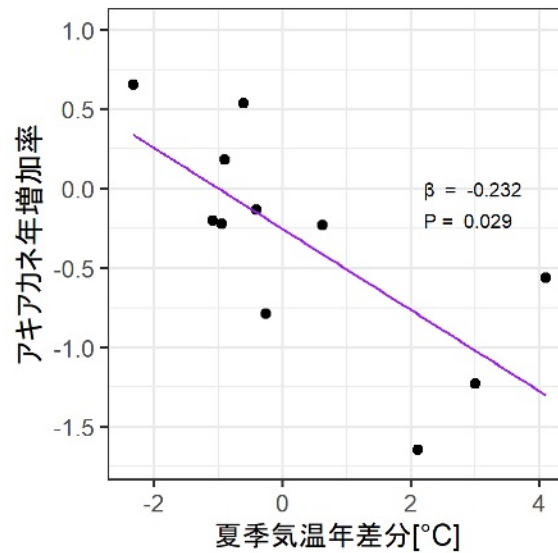


図4.4.6 富山県における夏季気温(7~8月平均気温の90パーセンタイル値)とアキアカネ増加率との関係

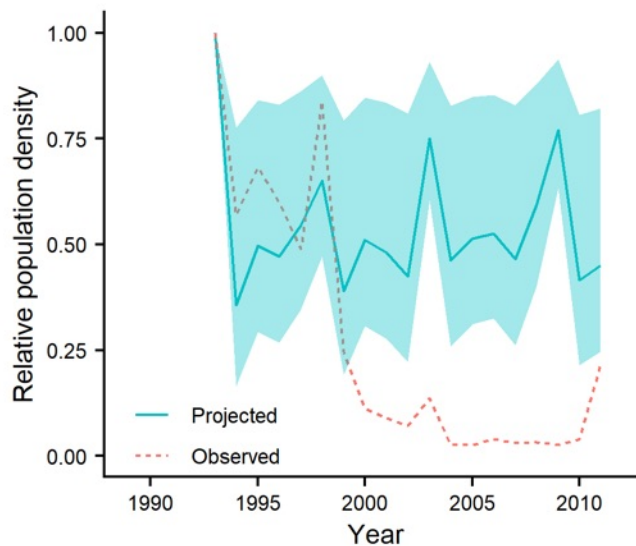


図4.4.7 気温の影響のみを考慮した簡易モデルによる個体群密度動態の数値計算結果(青実線)と実際の観測結果(赤点線)の比較

⑤ 個体群モデルを用いたアキアカネ激減の要因解析

毒性パラメータ取得のために行われた実水田を用いた実験の結果から、アキアカネに対するクロラントラニリプロールの毒性は低い(クロラントラニリプロール処理により個体数は有意に減少しない)ことが示された(図4.4.8)。この結果から、個体群モデルでのクロラントラニリプロールによる死亡率は0に設定した。既往知見をもとに設定した諸パラメータを用いた個体群モデルにより動態のシミュレーションを行ったところ、90年代のアキアカネ激減期の動態が概ね再現できることを確認した(図4.4.9)。このことから、開発した個体群モデルは一定の妥当性をもつと考えられた。この個体群モデルを用いたシミュレーションを行い、各要因の及ぼす影響を定量的に評価した。まず、育苗箱施用殺虫剤による死亡率がもし実際よりも1/4または1/8ほど低かった場合を想定したシミュレーションを行ったところ、その程度の低毒性であった場合には90年代でのアキアカネの激減は生じない(概ね半減程度の減少にとどまる)という結果が示された(図4.4.10)。また、卵~羽化期死亡の大きな上昇の原因となる中干し・乾田化と強く関連する圃場整備率のパラメータについて過去のパラメータ値を用いてシミュレーションを行ったところ、圃場整備率が1980年代以前の水準である場合には、90年代のアキアカネの

激減は生じないという結果が示された（図4.4.11）。これらの結果から、90年代のアキアカネの激減は、(1) 90年代以降に普及した育苗箱施用殺虫剤の強い毒性に起因する卵～羽化期死亡率の上昇と、(2) 90年代までの圃場整備事業等により促進された中干し・乾田化等に起因する卵～羽化期死亡率の上昇、の2つの要因の組み合わせにより生じたことが示唆された。また一方で、静岡県・富山県・石川県における普及率の推定値をもとに、各県での育苗箱施用殺虫剤による死亡率の変化を計算したところ、90年代から死亡率が上昇し00年代には概ねピークに達している一方で、その後も死亡率は高止まりしている傾向が示された（図4.4.12）。このことは、90年代の激減以降も育苗箱施用薬剤の影響により個体群の回復が抑えられている可能性を強く示唆するものである。

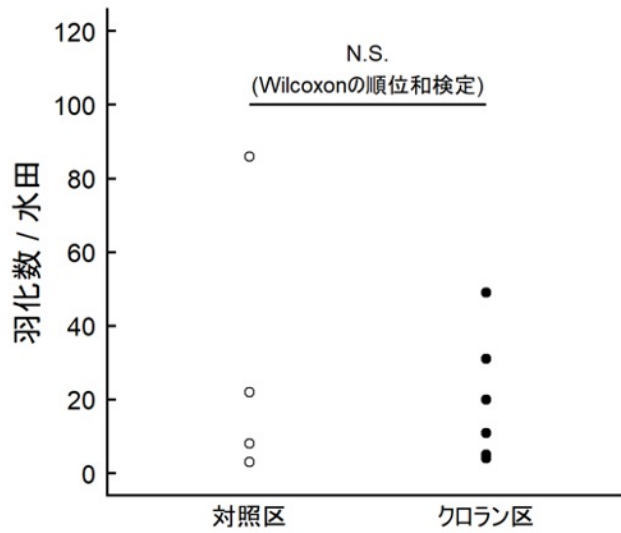


図4.4.8 クロラントラニプロール散布によるアキアカネ羽化数(羽化殻数)への影響

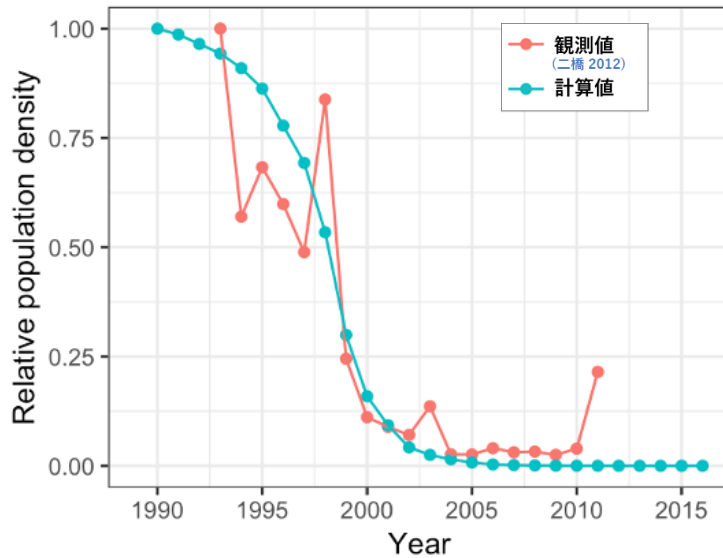


図4.4.9 個体群モデルを用いた富山県におけるアキアカネ個体群の計算結果

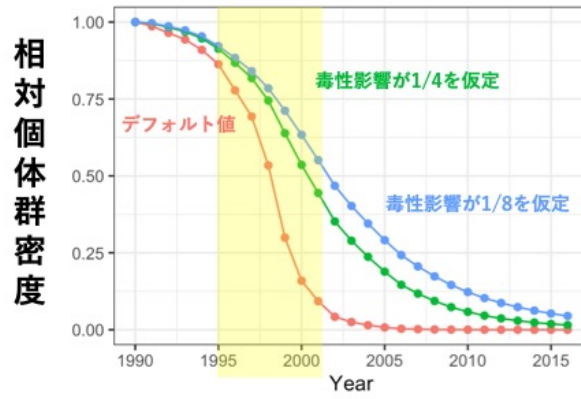


図4.4.10 箱施用殺虫剤の毒性影響の強さ(死亡率)をそれぞれ1/4および1/8の値に変化させた場合の個体群密度の動態のシミュレーション

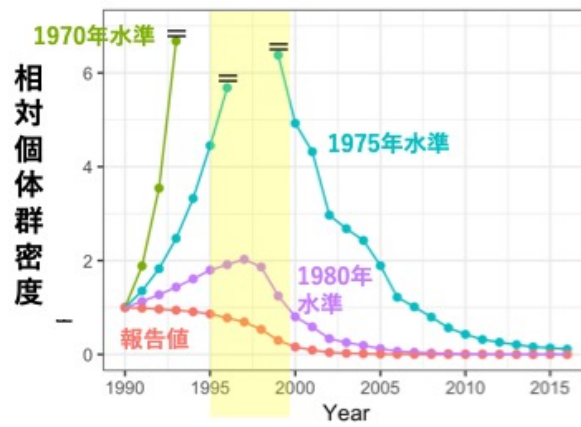


図4.4.11 異なる年代の水準の圃場整備率をパラメータ値として用いた場合の個体群密度の動態のシミュレーション結果

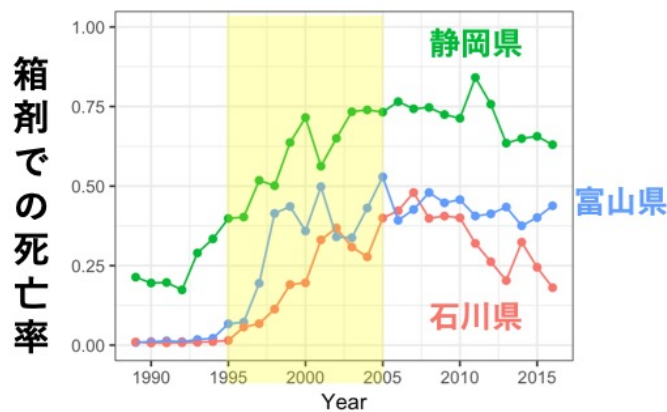


図4.4.12 静岡県・富山県・石川県における普及率から計算される箱剤施用殺虫剤による死亡率の変化

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

これまで断片的であった既往の知見をHillの因果性基準に基づくスコアリングによって評価したこと

で、アキアカネの減少と殺虫剤影響との因果性について、証拠の有無や強弱を統合的に示すことができた。また、殺虫剤の都道府県別の用途別農薬使用量を推定することで、箱施用剤の水田施用による長期的な影響を解析するための基礎データが整備された。この用途別農薬使用量の長期データとアキアカネの長期モニタリングデータに基づき統計的因果推論手法を用いた解析を実施することにより、育苗箱施用殺虫剤がアキアカネの個体群動態に与える因果的影響を、野外でのモニタリングデータに基づき統計的に示すことに初めて成功した。さらに、個体群モデルを構築し、各要因がもたらす影響の大きさのシミュレーション解析を行うことにより、農薬による影響とその他の影響を個別に評価することが可能となった。その結果、90年代のアキアカネの激減は、育苗箱施用殺虫剤による死亡率の上昇と、中干し・乾田化等に起因する死亡率の上昇の2つの要因の組み合わせにより生じたことが示唆された。

研究全体を通じて、(1)既往知見のレビューによる因果性の推定、(2)調査観察データに基づく統計的因果推論による因果効果の推定、(3)個体群モデルを用いたシミュレーションに基づく因果効果の推定、という3つの異なるアプローチの因果推論手法が開発され使用された。これらの異なるアプローチを相補的に用いることにより、農薬の因果効果について総合的観点からの推論が可能となった。これらの一連の研究は農薬の生態系への因果効果推定に関する方法論の開発と応用における先駆的な到達点と言えるものであり、国際的にも非常に高い科学的意義をもつものである。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

なし

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究において開発された農薬の因果効果推定の手法は、今後行政がモニタリングデータ等の活用により農薬の影響評価を行う際に活用されることが見込まれる。

6. 国際共同研究等の状況

なし

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) Nakanishi, K., Yokomizo, H., Hayashi, T.I. (2018) Were the sharp declines of dragonfly populations in the 1990s in Japan caused by fipronil and imidacloprid? An analysis of Hill's causality for the case of *Sympetrum frequens*. Environmental Science and Pollution Research 25: 35352-35364.
- 2) Nakanishi, K., Ueda, T., Yokomizo, H., Hayashi, T.I. (2020) Effects of systemic insecticides on the population dynamics of the dragonfly *Sympetrum frequens* in Japan: Statistical analyses using field census data from 2009 to 2016. Science of The Total Environment, 134499.

<査読付論文に準ずる成果発表>

なし

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 中西康介、横溝裕行、林岳彦 (2019) 水田における育苗箱施用殺虫剤がアキアカネの激減に与えた因果的影響のレビュー. 環境ホルモン学会ニュースレター 21(4): 3.

(2) 口頭発表 (学会等)

〈口頭発表〉

- 1) 中西康介・大久保卓也：日本環境動物昆虫学会第29回年次大会（2017）水田における中干しが水生動物群集の動態にあたる影響
- 2) 中西康介・大久保卓也：第8回 琵琶湖流域の水田生物研究会（2017）水田で繁殖する水生昆虫やカエルは中干しを乗り越えることができるのか？
- 3) 中西康介・上田哲行・横溝裕行・林岳彦：第65回全日本生態学会大会（2018）北陸地方における近年の育苗箱施用浸透性殺虫剤の出荷量とアキアカネ個体数との関係
- 4) 中西康介・横溝裕行・林岳彦（2018）水田のアカトンボ類減少に対する育苗箱施用殺虫剤の因果性の評価、第24回日本環境毒性学会研究発表会
- 5) 中西康介・上田哲行・横溝裕行・林岳彦（2018）水田における殺虫剤施用はアキアカネ成虫の個体数変動と関係があるのか？第34回個体群生態学会大会
- 6) 中西康介・横溝裕行・林岳彦（2018）水田における育苗箱施用殺虫剤がアキアカネの激減に与えた因果的影響の評価、日本環境動物昆虫学会創立30周年記念大会
- 7) 中西康介・横溝裕行・林岳彦（2018）水田における育苗箱施用殺虫剤がアキアカネの激減に与えた因果的影響のレビュー、第21回環境ホルモン学会研究発表会
- 8) 中西康介・上田哲行・横溝裕行・林岳彦（2019）水田の殺虫剤はアキアカネを減らしているのか？—北陸地方における近年の野外調査データを用いた因果効果の推定、第17回つくばE3セミナー
- 9) 中西康介・小出大・横溝裕行・角谷拓・林岳彦（2019）アキアカネの減少に対する温暖化影響の評価、日本生態学会第66回全国大会
- 10) 中西康介（2019）赤トンボはなぜ減ったのか？—水田における育苗箱施用殺虫剤が個体群減少に与える因果的効果の評価、第40回環日セミナー
- 11) 中西康介（2019）アキアカネはなぜ減ったのか？—水田の殺虫剤が与えた因果的影響の評価、九州・沖縄昆虫研究会 2019年春の例会
- 12) 中西康介・上田哲行・横溝裕行・林岳彦（2019）水田の殺虫剤はアキアカネを減らしているのか？—2009年から 2016 年までの野外調査データの解析、日本昆虫学会第79回大会
- 13) 中西康介（2019）農薬は水生動物群集に影響を及ぼすか、第10回 琵琶湖流域の水田生物研究会
- 14) 中西康介・西川潮・横溝裕行・林岳彦（2019）クロラントラニリプロールを成分とする育苗箱施薬が水田のアカネ属の羽化数におよぼす影響、日本環境動物昆虫学会第31回年次大会
- 15) 中西康介・西川潮・横溝裕行・林岳彦（2020）水田で羽化するアカネ属に対する育苗箱施用殺虫剤クロラントラニリプロールの影響評価、日本生態学会第67回全国大会

(3) 出願特許

なし

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 中西康介（2017）水田で繁殖する水生生物群集の保全生態学的研究、琵琶湖博物館研究セミナー、滋賀県立琵琶湖博物館（2017年8月18日、聴講者約50名）
- 2) 中西康介（2017）水田は生物多様性保全の場として機能するのか、第4回筑波嶺セミナー、筑波大学（2017年11月24日、聴講者22名）
- 3) 中西康介（2019）「田んぼの生きものと環境の研究」の講演、八千代市立萱田小学校（2019年2月、聴講者30名）

(5) マスコミ等への公表・報道等

なし

(6) その他

なし

8. 引用文献

- 1) Hernán, M. A. & Robins, J. M. *Causal inference*. (Chapman & Hall/CRC, 2020).
- 2) Imbens, G. W. & Rubin, D. B. *Causal inference in statistics, social, and biomedical sciences*. (Cambridge University Press, 2015).
- 3) Pearl, J. & Mackenzie, D. *The book of why: the new science of cause and effect*. (Basic Books, 2018).
- 4) Hill A. B. (1965) The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med* 58:295-300.
- 5) Cresswell JE, Desneux N, vanEngelsdorp D (2012) Dietary traces of neonicotinoid pesticides as a cause of population declines in honey bees: an evaluation by Hill's epidemiological criteria. *Pest Manag Sci* 68:819-827.
- 6) Nakanishi, K., Yokomizo, H., Hayashi, T.I. (2018) Were the sharp declines of dragonfly populations in the 1990s in Japan caused by fipronil and imidacloprid? An analysis of Hill's causality for the case of *Sympetrum frequens*. *Environmental Science and Pollution Research* 25: 35352-35364.
- 7) 谷地 俊二, 永井 孝志, 稲生 圭哉. (2016) 水田使用殺虫剤の用途別使用量の簡便な推定方法の開発. *日本農薬学会誌* 42(1) 41 巻 1 号.
- 8) Nakanishi, K., Ueda, T., Yokomizo, H., Hayashi, T.I. (2020) Effects of systemic insecticides on the population dynamics of the dragonfly *Sympetrum frequens* in Japan: Statistical analyses using field census data from 2009 to 2016. *Science of The Total Environment*, 134499.
- 9) 二橋亮 (2012) 富山県におけるアカトンボ激減の実態. *昆虫と自然*, 47(8): 9-14.

II-5 全国レベルのトンボ類分布実態調査とリスクマップ作製

国立研究開発法人国立環境研究所

角谷 拓・池上 真木彦

平成29年度～令和元年度研究経費（累計額）：14,750千円（研究経費は間接経費を含む）
（平成29年度：5,000千円、平成30年度：4,750千円、令和元年度：5,000千円）

[要旨]

近年アキアカネの減少が各地で報告されており、その背景に水田で利用されるネオニコチノイド農薬の影響が挙げられている。実験室や水田を模したメソコズム試験では農薬の影響は明らかではあるものの、実環境では、気候や防除暦が異なり、農薬各剤の使用量やその地域におけるトンボの分布は定量的に把握されておらず、トンボ減少要因の推定は容易ではない。そこで、本研究テーマでは日本各地点におけるアキアカネなどのトンボの分布と、農薬各剤の使用量の推定を行い、トンボ分布地図と農薬使用量地図を作成した。そこにトンボに対する農薬急性毒性値とトンボの水田依存度を組み込むことで、各地点における農薬リスク値を計算しリスクマップを作製した。そして得られたリスクマップを基に、野外におけるトンボ減少要因として農薬が果たす役割を議論する。

[キーワード]

種分布モデル、農薬使用量地図、ハザードマップ、リスクマップ

1. はじめに

近年アキアカネの減少が各地で報告されており、その背景に水田で利用されるネオニコチノイド農薬の影響が挙げられている。ネオニコチノイドなどの農薬がアキアカネなどの減少を引き起こす直接的な要因の一つであることは、室内毒性試験や水田環境を模したメソコズム試験を通じて明らかとなっている¹⁾²⁾³⁾、野外におけるアキアカネなどの減少は様々な要因が影響しうるため、農薬がどの程度影響しうるのかは不明であった。一つにはアキアカネという普通種であっても詳細な分布は把握されておらず、その個体数の変化を記録した学術的なデータも不足しているためである。従って、現在アキアカネが見られないあるいは少ない地域であっても最初から分布していないのかあるいは数が少ないのかを判断するのは難しい。他方、南北に長い日本列島では稲という同じ作物であっても、作付け時期や主な害虫などが異なり、農薬の使用などもその地域の実情に合わせた防除暦に従う。また、市販の農薬は複数の農薬原体が異なる比率で使用されている事もあり、全国各地における農薬使用実態の把握は困難を極める。

2. 研究開発目的

そこでサブテーマ5では

- (1) トンボ分布情報を用いて日本産トンボ各種の2次メッシュ毎の分布範囲を推定し、その分布制限要因を探る。
- (2) 都道府県別農薬出荷量データベースより推測された目的別農薬使用データと水田比率を基に、3次メッシュ（1 km² 注：メッシュは緯度と経度により規定されるため、面積は緯度により若干異なる）ごとの農薬使用量地図を作成する。
- (3) 急性毒性試験とトンボ各種の水田依存度を文献やサブテーマ1から収集し整理し、トンボ分布図と農薬使用量地図組み合わせ、トンボに対する農薬リスクマップを作製し、トンボが減少した背景に農薬があるのかを議論する。

3. 研究開発方法

- (1) データベースと種分布モデル
- (2) 国立環境研究所、産業技術総合研究所、農研機構および日本トンボ学会が共同で整備している、日本全国のトンボ分布情報データベース（図3.5.1）から、90年代以降の分布記録を抽出し、2次メッシュ（約100 km²）に統合・整形した。またトンボ類の地理分布に影響を与える要因として、気候、土地利用、水域環境、水草の多様性に関する地理情報を収集し、2次メッシュ単位で整備した。全国スケールでトンボ各種の分布並びに分布を規定する環境要因を推定するため、分布推定モデルの構築を開始した。試行的なモデルとして、多種の分布情報を用いて、種間の分布の類似性（同じ場所に出現しやすいか否か）に関するパラメータを推定可能な、Joint Species Distribution Model (JSDM) の一種、Generalized Joint Attribute Model (GJAM、図3.5.2)を用い⁴⁾、それぞれの種を独立に扱う従来型の手法（一般化線形モデルや、空間自己相関回帰）との比較を行った。

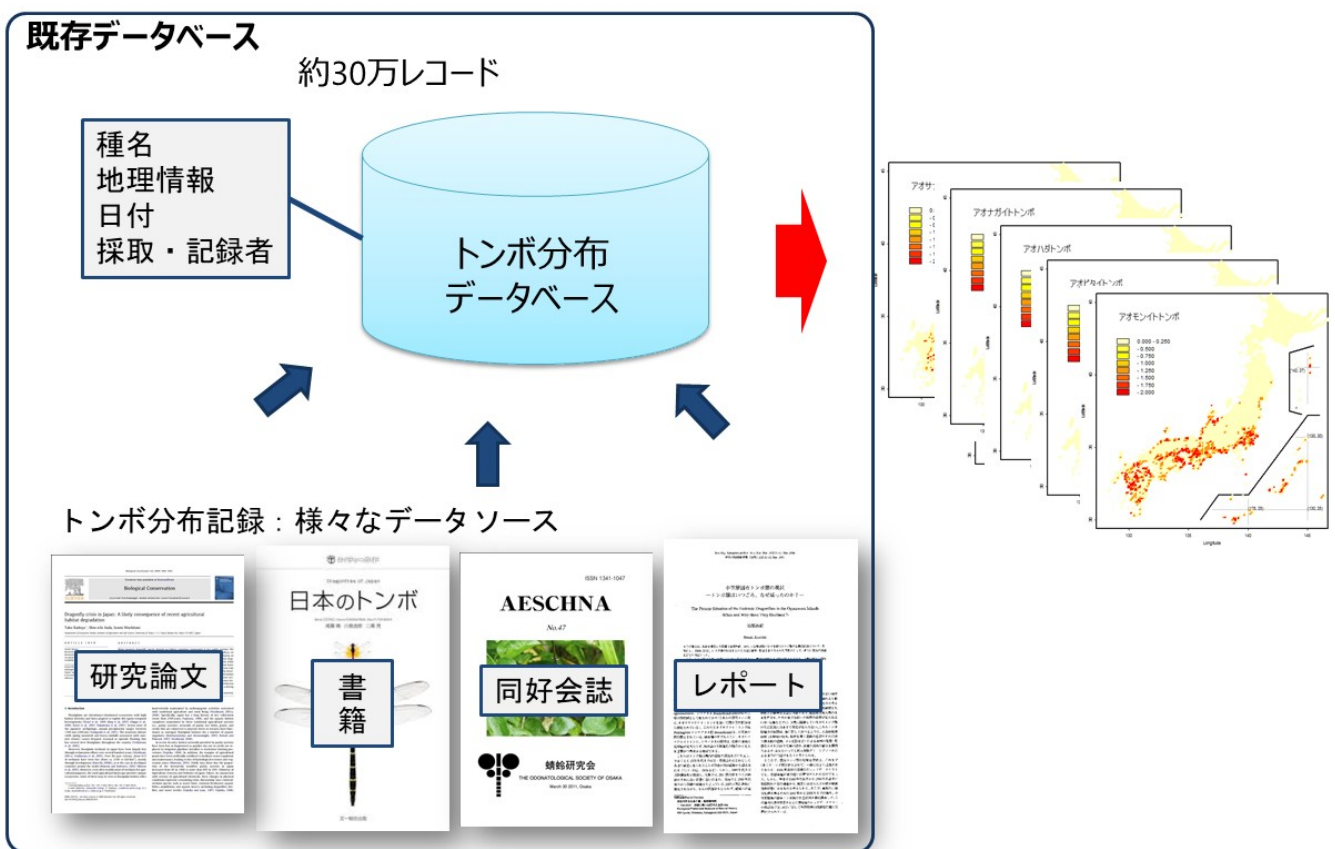


図3.5.1 トンボ分布推定のために必要となるトンボ分布データベース

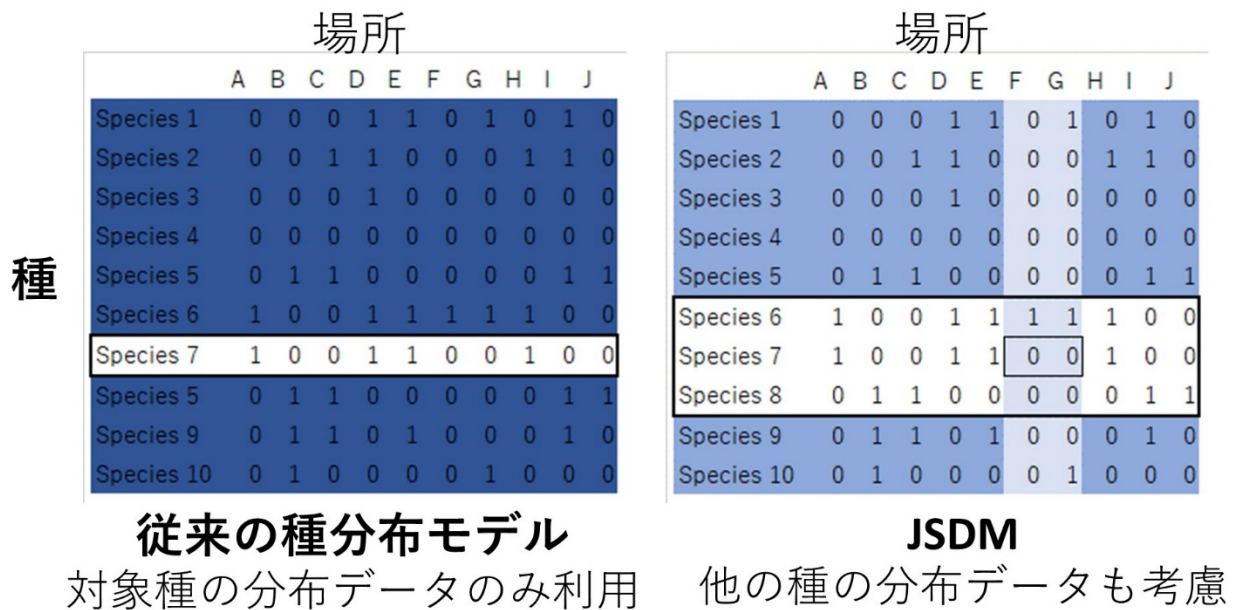


図3.5.2 Joint Species Distribution Model (JSDM)の概念図。対象となる種の分布データのみを使う従来の種分布モデルと異なり、他種の分布データも考慮することで欠損したデータや生物相互作用なども考慮したモデルが作成できる

(3) 農薬地図

農薬原体の都道府県別出荷量と各農薬の使用形態（農薬要覧）を基とした都道府県用途別農薬使用量推定データを農研機構より入手し整備した⁵⁾。そしてJAXAの高解像度衛星画像⁶⁾を基に、全国3次メッシュ（1 km²）単位の水田と畑の利用比率を算出し、都道府県別の農薬使用量から、3次メッシュ各地点における農薬使用量の推定を行い、農薬各剤の農薬使用量地図を整備した。

(4) リスクマップ

リスクマップ作製のためには、各地点における農薬使用量、トンボへの農薬毒性値（半数致死量）、トンボの分布確率そしてトンボの水田依存度（幼虫が水田に生息するか）が必要と考えられる（図3.5.3）。そこで、まずサブ1などで行われた毒性試験結果を整理し、各農薬のトンボ毒性値を整理する。そこに農薬使用量地図を組み合わせて、農薬ハザードマップを作製する。そして、トンボ各種の水田依存度を文献から整理し、種分布モデルによる予測分布図を用いて、全国農薬リスクマップを作製する。

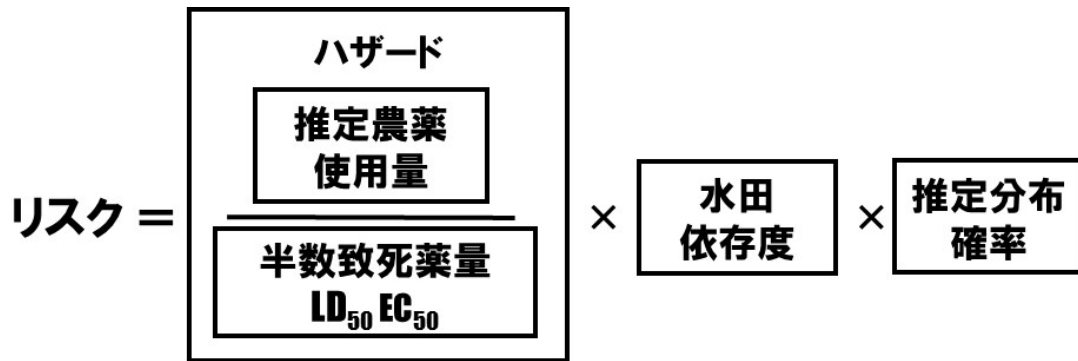


図3.5.3 ハザードマップそしてリスクマップ作製のために必要な諸情報

4. 結果及び考察

(1) データベースと種分布モデル

トンボ分布情報データベースより、日本産トンボ類196種の2次メッシュごとの出現地図を作製し、分布情報をえた196種のうち2次メッシュにおいて20以上の出現記録がある135種を対象として分布に対する環境要因の影響をGJAMによって解析した。その結果、トンボ類の分布には平均気温や森林面積が大きな影響をもっていることが示された（図4.5.1）。またGJAMによって構築された分布推定モデルと、従来型の一般化線形モデル(GLM)および空間自己相関モデル(CAR)との間でAUC値を基に予測力の比較をおこなったところ、GJAMモデルは、従来型のモデルと同等以上の精度を持つことが示された（AUC値：GJAM = 0.959；GLM = 0.737；CAR = 0.994、注：AUC値が高いモデルほど解析対象種の出現有無を高い率で判別出来る）。

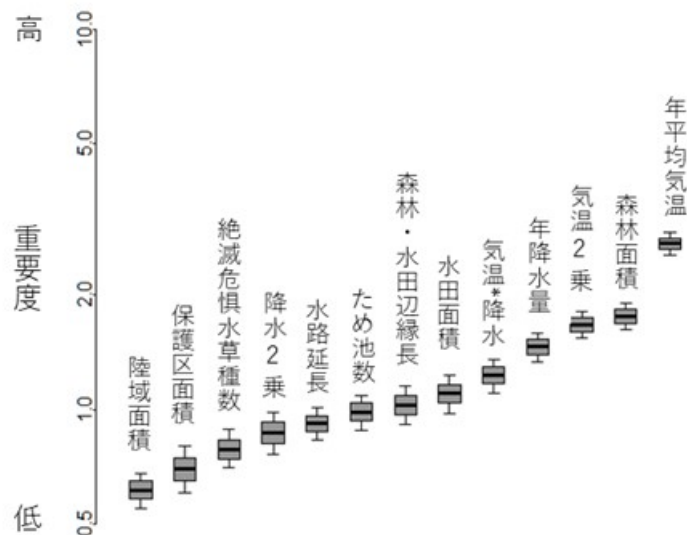


図4.5.1 JSJM の一つ、GJAMによって推定された各環境要因の感度。感度が高いほどトンボ類の分布を説明する際に重要度が高いと解釈できる

(2) 農薬地図

全国都道府県別ネオニコチノイド系農薬とフィプロニルの使用量をみると、北海道が突出し、新潟や熊本などが続いていた（図4.5.2）。使用用途を見ると、都道府県によって、畑や果樹園

での使用量が多い長野、静岡、青森などの地域もあれば、水田での使用量が多い岩手や宮城などの地域もあり、主要作物により農薬使用量が異なることが伺われた。1 km²メッシュ毎の推定農薬利用地図を解析した所、殺菌剤は東北地方で、除草剤は比較的普遍的に、殺虫剤は南方ほど多く使用されている実態が浮かび上がった（図4.5.3）。全体での使用量が多い北海道は農地面積も広いため、単位面積当たりでの使用量は比較的低い一方、熊本や愛媛、和歌山や静岡では単位面積当たりの殺虫剤使用量が高いことが示された。殺虫剤の使用は茶園や果樹園で多いと推測されたが、土地利用の詳細な実体が不明であるため、今後の検討課題とする。1995-2010年におけるネオニコ農薬の使用傾向を見ると、南から北へ順次使用が開始された事が改めて確認された（図4.5.4）。今後トンボ分布モデルの結果を用いて日本各地におけるアキアカネ減少開始時期などを精査する事で、ネオニコなどがアキアカネ減少の引き金となっていたのかの検証などが可能であると考えられる。トンボ類の分布には農薬利用以外にも、気候要因や森林面積などの土地利用が影響を与えている。これらの諸要因を同時に考慮することで、注目する農薬以外の環境要因が異なる地域間であっても相互に比較可能な評価モデルを構築できると考えられる。

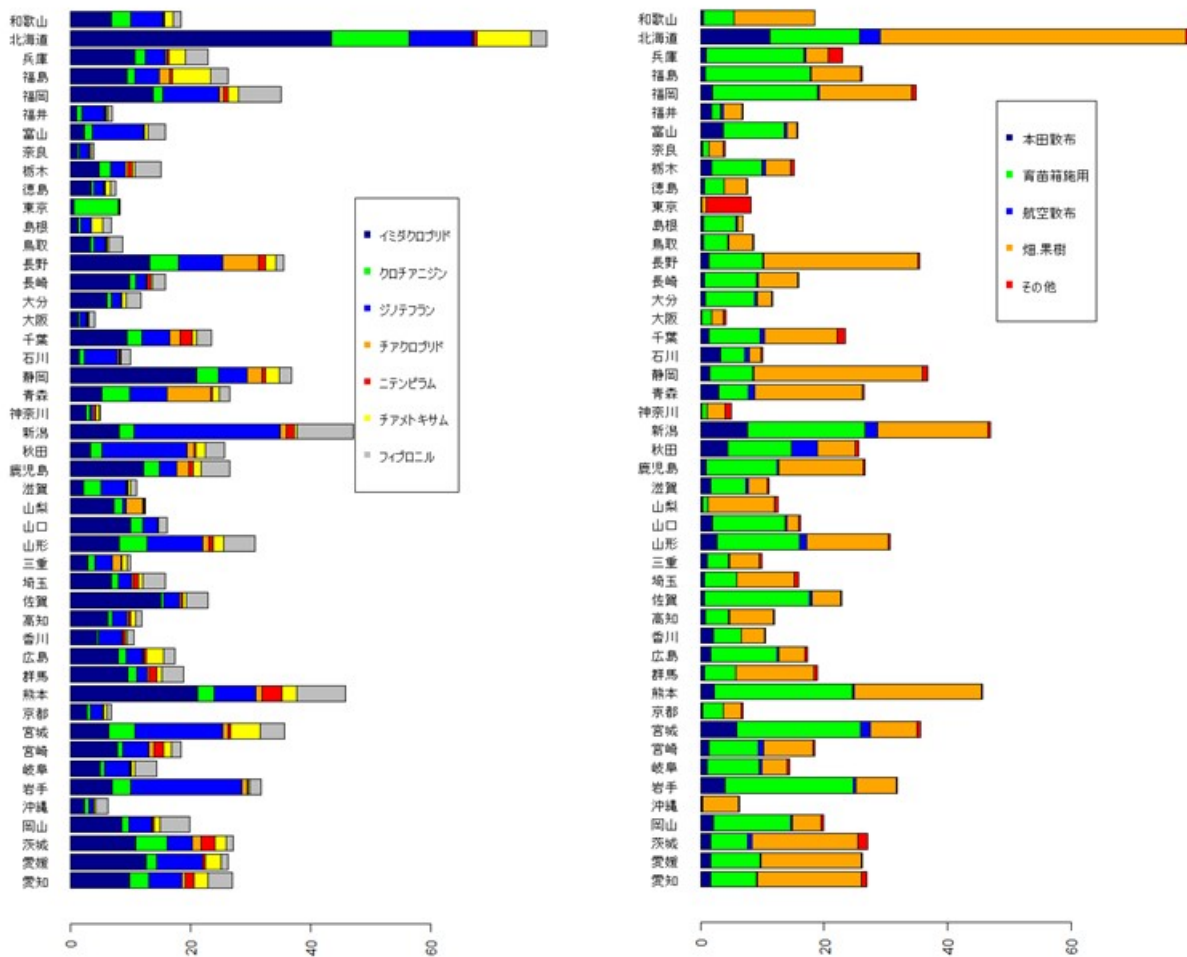


図 4.5.2 全国各都道府県における、代表的なネオニコチノイド農薬並びにフィプロニルの使用量(左)と使用用途(右)のグラフ

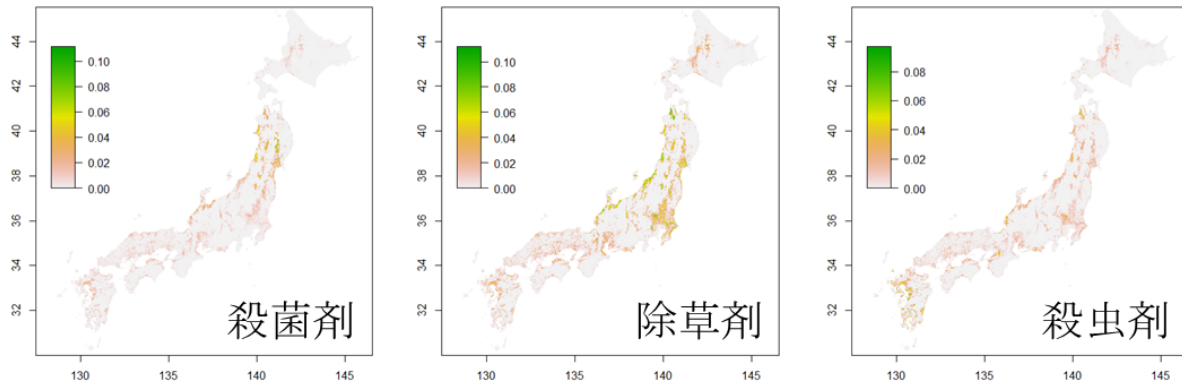


図4.5.3 全国1 km²メッシュ毎の水田における殺菌剤、除草剤そして殺虫剤の推定総使用量(2010年度)

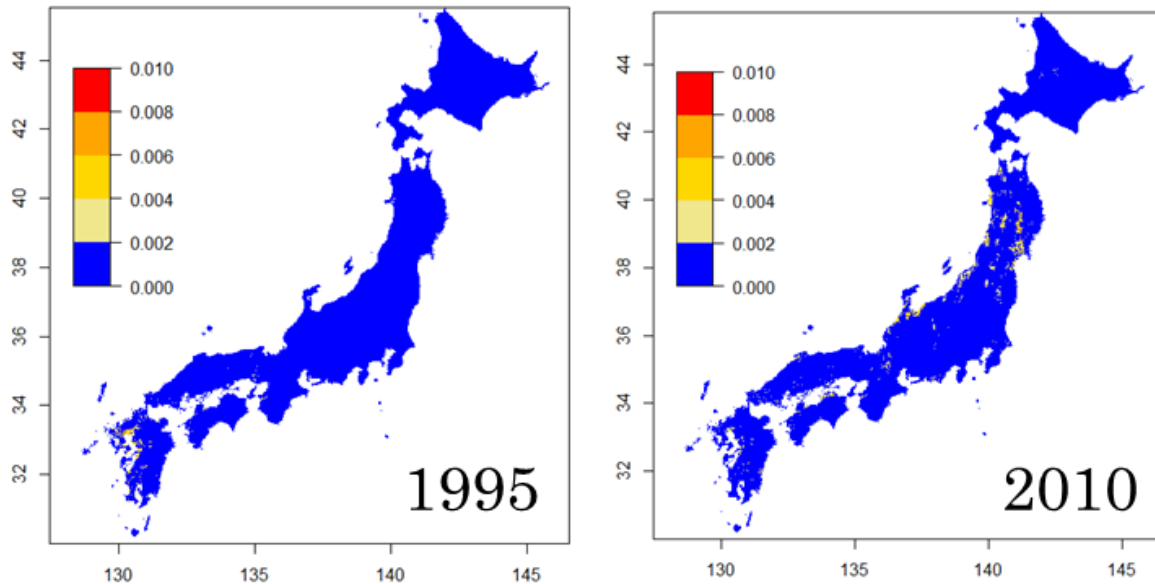


図4.5.4 1995年度(左)と2010年度(右)における全国1 km²メッシュ毎のネオニコ6種推定総使用量。1995年には南西日本でのみ利用されていたネオニコ農薬が、2010年には東北や北陸でも利用されている事がわかる

(3) リスクマップ

サブ1の毒性試験や、今まで行われたトンボ毒性試験結果⁷⁾をまとめたところ、アキアカネ・アオモンイトトンボを対象とした主要7系統15剤の急性毒性値を得た(表4.5.1)。1 km²メッシュ毎の推定農薬利用地図に、この急性毒性値を組み合わせ、農薬ハザードマップを作製し(図5-8中)、文献調査から得られたトンボ各種の水田依存度⁸⁾と予測分布図を用いて、全国農薬リスクマップを作製した(図5-8右)。アキアカネは全国的に分布するが(図5-8左上)、ネオニコチノイド系農薬の使用は南西に行くほど高いたため、新潟から北陸にかけての日本海側、関東地方内陸部、そして九州が高リスク地域と判定された(図5-8右上)。一方でアオモンイトトンボは関東以西に分布するため(図4.5.5左下)、高リスク地域は関東内陸部や九州に限られた(図4.5.5右下)。15剤すべてを考慮した場合、アキアカネは新潟から北陸、そして関東内

陸部が（図4.5.6左）、アオモンイトトンボでは北陸と九州が高リスク地域と判定され（図4.5.6右）違いがみられた。これはトンボの種類によって分布、農薬への毒性値が異なることに起因すると考えられる。

ハザードマップやリスクマップの作製には毒性試験の結果が必要なため、本研究はトンボ2種に対する15剤の地図作成に限られた。しかしながら、対象としたトンボは異なる系統（トンボ科とイトトンボ科）に属する代表的な種であり、農薬も我が国で広く利用される作用系統の異なる代表的な剤である。従って、本研究成果は水田でのトンボに対する農薬ハザードやリスクの実態を反映していると考えられ、今後野外データによる検証や本成果を外挿する事によるトンボ他種への拡張が必要である。

表4.5.1 アキアカネ・アオモンイトトンボを対象とした主要7系統15剤の急性毒性値

農薬名	農薬系統	アキアカネ(EC50)	SE	アオモン(EC50)	SE
イミダクロプリド	ネオニコチノイド系	1054.0	105.7	112.0	11.5
アセタミプリド	ネオニコチノイド系	147.2	25.0	336.0	46.1
ニテンピラム	ネオニコチノイド系	3337.0	395.4	550.0	71.7
チアクロプリド	ネオニコチノイド系	620.5	142.8	128.0	16.0
チアメトキサム	ネオニコチノイド系	78.5	10.8	1372.0	201.0
クロチアニジン	ネオニコチノイド系	109.6	17.5	121.0	15.0
ジノテフラン	ネオニコチノイド系	1263.0	198.9	523.0	91.8
フィプロニル	フェニルピラゾール系	8.1	1.0	1.8	0.2
M EP	有機リン系	3.6	0.6	7.9	0.2
BPM C	カーバメート系	136.0	13.7	43.6	4.8
ベンフラカルブ	カーバメート系	6.3	0.4	28.3	2.0
エトフェンブロックス	ピレスロイド系	8.0	1.1	0.6	0.1
シラフルオフェン	ピレスロイド系	16.3	2.5	8.2	1.8
カルタップ	ネライストキシシン系	85.6	15.7	1053.0	168.0
クロラントラニリプロール	ジアミド系	2221.0	133.4	910.0	170.0

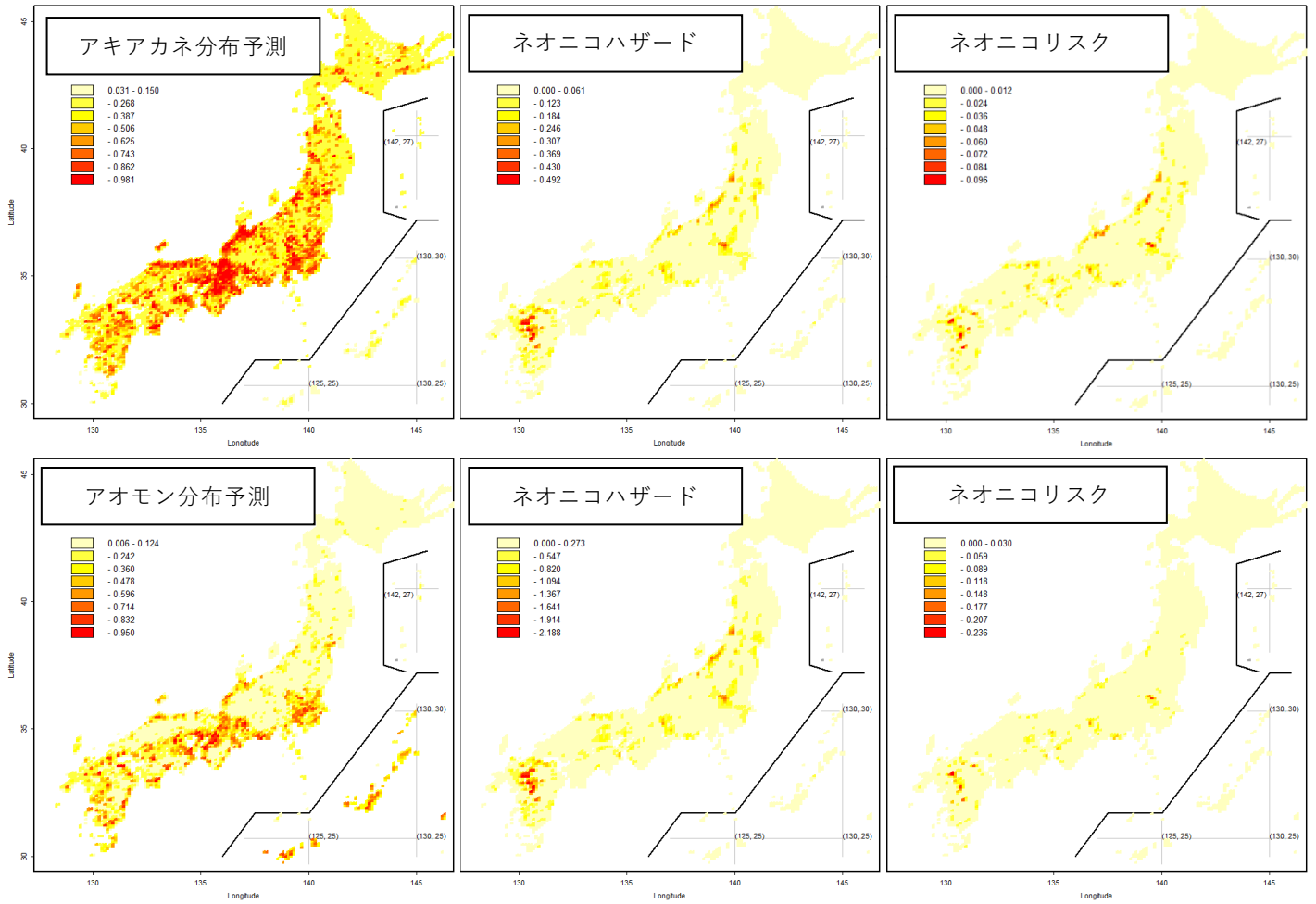


図5.5.5 アキアカネ(上段)そしてアオモンイトトンボ(下段)の分布予測地図(左)、ネオニコチノイド農薬ハザード地図(中)とリスク地図(右)

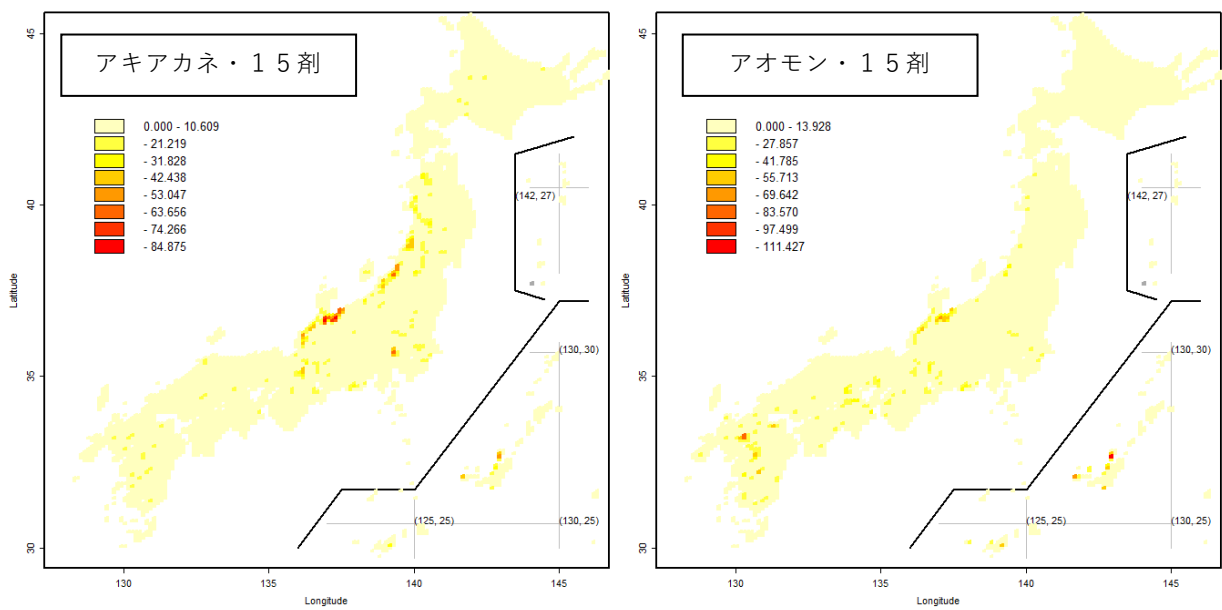


図5.5.6 主要7系統15剤全体が与えるアキアカネ(左)そしてアオモンイトトンボ(右)に対する、農薬リスク

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

トンボ類の分布には農薬利用以外にも、気候要因や森林面積などの土地利用が影響を与えることが明らかになった。これらの諸要因を同時に考慮することで、注目する農薬以外の環境要因が異なる地域間であっても相互に比較可能な評価モデルを構築することができると考えられる。また、景観中の推定農薬使用量や農薬生態リスクの可視化は、実環境での農薬影響評価を可能にするため、野外における農薬影響評価において重要なツールとなり得る。本成果は従来の室内毒性試験や水田メソコズムで得られた農薬リスク評価を、全国スケールの環境中における農薬使用量とトンボ分布予測そして毒性試験結果を組み合わせることで、景観中の農薬生態リスクの可視化を行い、実環境での農薬影響評価への道筋をつけた。今後は、野外データによる検証、そして本成果をもとに他のトンボ種や昆虫類への農薬影響評価を拡張し、より現実に即した多様性影響評価が必要である。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

<行政が活用することが見込まれる成果>

農薬使用量地図はトンボのみならず、野生ハチやほかの昆虫ひいては鳥類など他の生物に対する農薬影響評価に利用することが可能であり、すでに令和元年度環境省請負業務「農薬の花粉媒介昆虫に対する環境影響調査業務」においても利用されている。

6. 国際共同研究等の状況

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

<査読付論文に準ずる成果発表>

<その他誌上発表（査読なし）>

(1) 口頭発表（学会等）

- 1) 角谷拓：第65回日本生態学会大会（2018）環境変動に対する多種間相関をもつ群集の応答：水生生物群集を事例に
- 2) 池上真木彦・五箇公一（2019）生物季節観測データを用いた、アキアカネをはじめとする生物相の経年変化分析 日本生態学会 第66回全国大会
- 3) 池上真木彦・五箇公一（2019）長期生物季節観測データから読み解くアキアカネの減少 日本応用動物昆虫学会 第63回全国大会

(3) 出願特許

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

(5) マスコミ等への公表・報道等

(6) その他

8. 引用文献

- 1) Jinguji, H., Ohtsu, K., Ueda, T. & Goka, K. (2018). Effects of short-term, sublethal fipronil and its metabolite on dragonfly feeding activity. *PLoS One*, 13, e0200299.
- 2) Hayasaka, D., Korenaga, T., Suzuki, K., Saito, F., Sánchez-Bayo, F. & Goka, K. (2012). Cumulative ecological impacts of two successive annual treatments of imidacloprid and fipronil on aquatic communities of paddy mesocosms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 80, 355-362.
- 3) Kasai, A., Hayashi, T.I., Ohnishi, H., Suzuki, K., Hayasaka, D. & Goka, K. (2016). Fipronil application on rice paddy fields reduces densities of common skimmer and scarlet skimmer. *Sci. Rep.*, 6, 1-10.
- 4) Clark, J.S., Nemergut, D., Seyednasrollah, B., Turner, P.J. & Zhang, S. (2017). Generalized joint attribute modeling for biodiversity analysis: median-zero, multivariate, multifarious data. *Ecol. Monogr.*, 87, 34-56.
- 5) Yachi, S., Nagai, T. & Inao, K. (2016). Development of a simple method for estimating the usage of paddy insecticides with each application method. *Japanese J. Pestic. Sci.*, 41, 1-10.
- 6) 高橋 陪夫, 奈佐原 顕郎 & 田殿 武雄. (2013). 日本におけるJAXA高解像度土地利用土地被覆図. *地図*, 51, 2_44-2_49
- 7) Sugita, N., Agemori, H. & Goka, K. (2018). Acute toxicity of neonicotinoids and some insecticides to first instar nymphs of a non-target damselfly, *Ischnura senegalensis* (Odonata: Coenagrionidae), in Japanese paddy fields. *Appl. Entomol. Zool.*, 53, 519-524.
- 8) 杉村 光俊, 石田 昇三, 小島 圭三, 石田 勝義 & 青木 典司. (1999). 原色日本トンボ幼虫・成虫大図鑑. 北海道大学図書刊行会, 札幌.

III. 英文Abstract

Scientific Clarification and Countermeasure to Ecological Impacts of Pesticides on Dragonflies

Principal Investigator: Koichi GOKA

Institution: National Institute for Environmental Studies
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, JAPAN
Tel: +81-29-850-2480 / Fax: +81-29-850-2480
E-mail: goka@nies.go.jp

Cooperated by: Faculty of Agriculture, Kindai University
Department of Agriculture, Saga University

[Abstract]

Key Words: Pesticide, Insecticide, Herbicide, Neonicotinoid, Fipronil, Odonota, *Sympetrum frequens*, Landscape, Risk assessment, Toxicity

In order to arrange the ecologically realistic toxicity test, we investigated the ecological issue in the present test-guideline, and we pointed out the necessity of long-term toxicity test using species whose life-cycle is longer than the ever test species. Combining with the results of previous mesocosm studies, we focused on Odonota species as test organisms. Then we set up the automatic breeding system for steady providing damselfly nymphs for toxicity tests. Using the system, we tested long-term (4W) toxicity test of damselfly. As result, we found that the long-term toxicity EC50 was likely to be much lower than the acute toxicity EC50, suggesting the sensitivity to insecticides of Odonota in the actual field.

Previous studies examining ecological impacts of pesticides applications on paddy ecosystems have largely focused on direct toxicity of pesticides on organisms. Therefore, our knowledge about “indirect effects” of pesticides, which mediated by interactions among organisms in paddies, is still limited. By conducting a three-year paddy mesocosm experiment, we found some indirect effects of a herbicide (pentoxazone) on Odonata larvae via a decline in macrophytes as well as strong direct impacts of an insecticide (fipronil). Based on our results, we discussed the impacts of the use of pesticides in more realistic situations, in which both insecticides and herbicides are applied.

Field investigations of Odonata in Saga Plain revealed that some species have rapidly reduced in these decades. The abundance of *Sympetrum eroticum* was negatively related to concentrations of a systemic insecticide (fipronil), which consistent with previous studies. The spring generation of *Ischnura senegalensis* seldom occurred at localities surrounded by paddy fields and the concentrations of fipronil negatively affected its abundance,

which strongly suggests that fipronil causes the population decline of this species.

A review of previous studies by scoring based on Hill's causality criterion indicated that neonicotinoid pesticides were very likely to be a major factor that cause the sharp decline of dragonflies. In addition, a statistical causal inference method using pesticides usage and field monitoring data revealed that use of insecticides decreased dragonfly population. Simulations using population models suggested that the sharp decline in Akiakane in the 1990s was caused by a combination of insecticides applied to nursery boxes and field maintenance that increased dryness of paddy fields.

Using two Odonata species and 15 major pesticides as a model case, we successfully generated fine scale pesticide risk maps at 100 km², incorporating the predicted distribution of Odonata species, estimated used of pesticides, actuate toxicities and dependency of paddy field. The visualization of ecological risks of pesticide at a landscape will aid to facilitate the better management of keeping biodiversity in highly productive lands in Japan.