ミニレビュー

河川底生動物を対象とした野外調査結果から 金属の“安全”濃度を推定する[#]

岩崎 雄一*

東洋大学生命環境科学研究センター

(2016年11月14日受理)

A journey to estimating “safe” concentrations of trace metals based on macroinvertebrate field surveys in rivers

Yuichi IWASAKI

Research Center for Life and Environmental Sciences, Toyo University, Itakura, Oura, Gunma 374-0193, Japan

Keywords: quantile regression, zinc, copper, monitoring, ecological risk assessment, management.

はじめに

農薬を含めた化学物質の生態リスク評価において、我々の保護対象は野外環境中の生物個体群や群集であり、厳密には実験室内で人工的（あるいは半人工的）構築されるそれらではない。最近では、実際の環境を模したメソコスム試験の活用もヨーロッパを中心に進んできているが¹⁾、過去（特に1990年よりも以前）には、時空間的にも大きなスケールでの生態系操作実験^{2,3)}や実環境中への化学物質（硫酸⁴⁾や銅⁵⁾、農薬⁶⁾）の意図的な散布などが生態影響の理解や評価の一貫として行われていた。より最近の例では、カナダのオンタリオ州北西部の実験湖エリアにおいて、合成エストロゲンがファットヘッドミノー（個体群）に及ぼす影響を2つの湖を使って7年間かけて実施されたKiddら⁷⁾の大規模な野外操作実験研究がある（著名な学術誌である米国科学アカデ

ミー紀要に掲載）。とはいえ、倫理的問題や設備やコストの問題も考慮すると、野外環境において時空間的スケールの大きい操作実験を行う機会はかなり限られているといえるだろう。

このような時空間スケールの大きい野外操作実験に比べると、OECD（経済協力開発機構）等のガイドラインに従って実施される室内毒性試験は比較的簡便であり、方法が標準化されているため実施場所や実験者による差異も生まれにくく、再現性も高く、人的および経済的コストも低い。したがって、化学物質の生態リスク評価における環境中での予測無影響濃度（Predicted no effect concentration, PNEC）の推定に、室内毒性試験から得られる毒性値（LC₅₀（median lethal concentration；半数致死濃度）やNOEC（No observed effect concentration；統計学的に有意な影響が観測されなかった最大濃度⁸⁾）、EC_x（Effect concentration of x: x%の個体が影響を受けると推定される濃度）など）の利用が世界的に進むのは当然と言えるだろう。最近では、そのような毒性値を複数の種について収集し、対数正規分布などの統計学的分布に当てはめ、群集レベルの影響を予測する方法（種の感受性分布方法）が、データが利用可能な状況では常套手段となり

[#] 第41回大会シンポジウムを取りまとめた解説。

* 〒374-0193 群馬県邑楽郡板倉町泉野1-1-1

E-mail: yuichiws@gmail.com

© 日本農薬学会

つつある⁹⁻¹²⁾。

しかし、室内試験結果から野外における生態影響を予測することが困難であることは古くから指摘がなされている^{13,14)}。特に、室内試験の結果から導出されるPNECや水質環境基準が「実環境においてどのような意味を持っているのか」という点は、リスク評価者や管理者、利害関係者にとって無視できない重要な問いと言えるが、この問いについて踏み込んだ研究ほとんど行われていない。例えば、化学物質の審査および製造等の規制に関する法律（化審法）のスクリーニング評価では、PNECを導出する際に、室内試験から野外への外挿の不確実係数として10が採用されているが、明確な科学的根拠を提示することは難しい。

このような問いに対し、私がこれまでに着目してきた野外調査研究は、実際の環境における生物への影響を直接観察することができ、「実際に環境中濃度がPNECと同等レベルであった場合に野外で予想される影響の大きさはどの程度か（例えば、生物種数の減少は予想されるか）」といった問いに解答を提示することができる。本稿では、この野外調査に着目して、生態影響評価手法における野外調査の位置づけを確認し、異なる野外調査の方法論について概観した後に、私がこれまでに実施してきた野外調査データを用いた金属の安全濃度推定に関する研究結果を紹介する。最後に、特に広域レベルで実施される生物モニタリングを用いた野外生態影響評価の可能性についても言及した。なお、野外調査に着目した化学物質の生態影響評価という文脈では、既出の拙著¹⁵⁾も参考にされたい。内容の重複はあるが、管理ではなく評価により重点を置き、本稿ではより踏み込んだ記述を加えるようにした。

1. 化学物質の生態影響評価手法

化学物質の生態影響評価手法は、(1)室内毒性試験、(2)模擬生態系試験（マイクロコスムやメソコスムなど）、(3)野外実験、(4)野外調査の4つに区分できる（表1）。ここでは、野外調査と比較することで、各手法の得手不得手を考察する。日本では、農薬登録の際に、藻類（緑藻：*Pseudokirchneriella subcapitata*）、ミジンコ（オオミジンコ）、魚

類（メダカまたはコイ）の急性の室内毒性試験結果が求められるが、先にも述べたとおり、これらの室内毒性試験は、野外調査に比べて操作性（および再現性）が高く、同条件で行われた試験間での比較が容易で、必要となる人的金銭的成本は少ないと言えるだろう（ただ、外部委託した場合の費用という意味では状況によって明確に優劣はつけにくいかもしれない）。一方で、単一種を用いて室内の比較的安定した条件および限られた時間内で行われる室内毒性試験の結果が、変動が大きく同時に多種が存在する野外環境での影響をどの程度反映しているか（あるいは予測できるか）は難しい問題である。

複数の生物種を用いるマイクロコスムやメソコスムなどの模擬生態系実験は、単純な系で行われる室内毒性試験に比べ実環境をより再現している。また、濃度操作が可能なため一般的に野外調査よりも操作性は高いといえるだろう。ただし、通常数週間から数か月で行われるため、時空間スケールには依然として限界がある¹⁶⁾。例えば、一年間の限られた時期に使用され、環境中での分解も比較的速い農薬のような物質であれば、このような試験結果から得られるものは少ないだろう。一方で、休廃止鉱山由来の廃水が流入する重金属汚染河川では、曝露が長期間続いており、野外での生態影響を理解するうえで、時間的なスケールが制限されていることの重要性はより大きくなると考えられる¹⁷⁾。空間スケールの限界も含めて模擬生態系実験の結果から野外での応答を理解することに対する批判は存在するが^{18,19)}、少なくとも化学物質濃度と野外生物群集の応答との因果関係や種間相互作用が存在する多種の応答を理解するうえで、模擬生態系実験が果たす役割は大きいだろう。なお、模擬生態系実験については、早坂ら（2013）¹⁶⁾に詳述されている。

野外実験の例については「はじめに」で言及した通りではあるが、例えば、汚染河川と非汚染河川の底質（礫）を入れ換えて生物の定着応答を比較する実験²⁰⁾や、実河川にケージを設置する実験（例えば、ケージ内に一定期間放流された魚類の金属蓄積と生体内応答を評価する研究²¹⁾）など、より時空間スケールの小さい実験も含まれる。化学物質の生態影響評価ではあまり使われていない印象を受けるが、野外調

表1. 化学物質の生態影響評価手法の比較

手法	生物種	費用	操作性	時空間スケール	現実性
室内毒性試験	主に1種	低	高	小	低
模擬生態系実験	数～多種	中程度～高	低～高	中程度	中程度
野外実験	多種	中程度	低～高	中程度～大	中程度
野外調査	多種	中程度～高	低	大	高

模擬生態系実験は、規模によってメソコスム実験やマイクロコスム実験等と呼ばれる。野外実験は、野外環境での操作実験を指す（詳細は本文も参照のこと）。野外調査の種類については、図1を参照のこと。なお、各手法に対する評価は、あくまで相対的な比較による目安であり、個別の実験・調査計画によって異なることが考えられる。

査に比べて実験設定を操作可能であり、検証する仮説に適した野外実験環境があれば、“お手軽な”影響評価方法にもなりうる。しかしながら、大小の出水が頻繁に起こる日本の河川のように、攪乱の多い環境では、長期間の実験をすることは現実的に困難であり、時間スケールの課題は依然残るかもしれない。

2. 異なるデザインの野外調査

では、野外調査はどうだろうか。他の手法内でも具体的な方法論には多様性はあるが、河川を例にとれば、野外調査も図1のように大まかに4つに分けられるだろう。まず、点源の汚染源がある場合に、その直上と直下で調査地点を設定し、生物調査をする方法である（方法1）。この方法1では、両地点を近傍に設定でき、流量等の河川環境の変化の影響は最小限に抑えられると考えられるため、当該廃水流入の影響を効果的かつ比較的容易に推定できるだろう。一方で、事例研究の要素は強く、例えば廃水に含まれる単一の化学物質の影響を抽出・推定することは容易ではないだろう。方法2は、汚染地点と非汚染地点で時間に継続した生物モニタリングを行うことで、水質等の変化がない状況における生物相の時間的変化を非汚染地点で捉えつつ、汚染地点において化学物質の負荷低減（あるいは負荷増加）による生物相の変化を評価するものである（BACI デザインと呼ばれる²²⁾）。

一方で、野外調査から特定の化学物質の生態影響を評価する場合は、方法3または方法4を利用することが多くなるだろう（図1）。方法3は、汚染の程度の異なる複数の河川（例えば、重金属汚染河川および非汚染河川^{23,24)}）において、地点の違いによる影響を排除するために複数の地点を設定し、生物調査を実施することで、当該汚染が野外の生物群集に及ぼす影響を評価する方法である。この際、交絡因子の影響を可能な限り排除できる調査デザインや解析方法を丁寧に選択することが肝となる¹⁵⁾。例えば、汚染地点と似通った環境（例：標高や河川サイズなどに加えて、流速や底質などの河川内環境）の非汚染地点を選出することで、これらの着目する要因以外の影響をできるだけ排除した比較が可能になる。ただし、例えば、休廃止鉱山の廃水に複数の金属、下水処理場廃水に複数の化学物質が含まれているように、この方法でも特定の化学物質のみの影響を抽出することは容易ではないことに留意されたい。

調査地域が限られる方法3では、得られた結果の他河川への適用可能性に課題が残る。この課題を解決するために、方法4では、さらに多くの河川および地点で調査を実施する。ただし、対象調査地点を増やすと、調査地点の選定は困難を極めるため、着目する化学物質以外の要因を制御することがさらに難しくなり、データのばらつきも大きくなるという別の課題が生まれる。しかし、これらの課題は分位点回帰などの適切な統計解析を用いることで一定程度解決することが可

図1. 化学物質の生態影響評価を目的とした野外調査。方法1：汚染流入源（例：排水口）の直上直下で生物調査を行う；方法2：汚染負荷の除去・低減（あるいは増加）の前後で、対照地点とともに生物相の変化を調査する；方法3：汚染河川と非汚染河川で複数の地点で調査を行う（この調査デザインでは、河川の違いによる影響を考慮できないため、厳密には汚染・非汚染ともに複数の河川を設定して調査することが好ましい）；方法4：多くの河川で調査地点を設定し、生物調査を実施する。

能である。

3. 野外調査結果から安全濃度を推定する

本章では、これらの方法3および4を用いて、重金属汚染河川で実施した底生動物調査結果から、亜鉛等の金属が顕著な影響を及ぼさない濃度（安全濃度）を推定した結果を紹介したい。対象とした大型無脊椎動物（以下、底生動物）は河川生態系において中間的な栄養段階に位置し²⁵⁾、汚染物質に様々な感受性を示す種によって構成されているため、野外調査や模擬生態系実験によって金属に対する応答を調べた研究も少なくない^{26,27)}。また、簡易な現地調査法によって、多様な分類群が採集できるのが底生動物を対象とする大きな利点の1つである。

まず、日本の休廃止鉱山周辺の河川において重金属汚染以外の影響をできるだけ排除できるように調査地点を設定し（方法3）、亜鉛濃度と底生動物の種数（分類群数）の関係を推定した研究について紹介する。この調査では、宮城県迫川、山形県寒河江川、兵庫県市川の3水系の上流域に設定した計25地点（早瀬）において、最大怪15～25cmの礫から底生動物を採集し、水質（亜鉛等の金属濃度、生物化学的酸素要求量、溶存酸素濃度など）、物理環境（川幅、流速まど）

を調査した^{23,24,28)}。これらの調査結果を用いた重回帰分析の結果、カゲロウ目の種数などすべての底生動物種数で、亜鉛濃度の影響についてはある一定濃度までは影響がないとするモデルが赤池情報量規準 (AIC) によって最良モデルとして選ばれ、基準値の2~3倍程度の亜鉛濃度でも底生動物の種数はほとんど減少しないことが示唆された (図2: カゲロウ目の種数の例)。これらの調査結果では、亜鉛とその他の金属 (銅, 鉛, カドミウム) の濃度は高く相関しており、亜鉛濃度の影響のみを抽出できていないため、安全濃度は過小推

図2. 亜鉛濃度とカゲロウ目種数との関係 (Iwasaki *et al.*²⁸⁾ より改変)。異なるプロットは異なる河川を意味する、黒線は赤池情報量規準最小の閾値モデルを示す。

定されていることが考えられる。以上の結果は、底生動物の種数の保全という観点でみれば、亜鉛の基準値は安全側の値に設定されていることを示唆している^{23,28)}。

次に、より広域で行われた底生動物調査結果を用いて、金属の安全濃度を推定した研究を紹介したい (方法4に該当)。このような研究では、前述した野外調査研究と比較して、解析対象とする調査データ内での方法や調査地域・地点の環境の多様性から、データのばらつきが大きくなるが、分位点回帰を用いることでこの問題に対処することができる (図3Aの脚注参照)。このようなデータに対する分位点回帰の適用についてはCade and Noon (2003)²⁹⁾ およびSchmidt *et al.* (2012)³⁰⁾ に詳しいが、生物の生息個体数や種数を制限するような要因を解析対象とする場合は、高分位点 (例えば、95%) を回帰することによって着目する説明変数の影響を推定することが一般的である (図3A)。

著者らは、この分位点回帰を利用して、英国、米国、日本の金属汚染河川や酸性河川で主に実施された底生動物調査結果 (合計400地点超) から、銅, 亜鉛, カドミウム, マンガンの4つの金属について底生動物の種数に顕著な影響を及ぼさない閾値濃度 (安全濃度) を推定した³¹⁾ (図3Bに銅とカドミウムの例を示した)。この解析では、直線モデルや指数モデルなど計4つの分位点回帰モデルをデータに当てはめた

図3. (A) 高分位点を回帰する場合の分位点回帰の概念図 (Cade and Noon²⁹⁾ より改変)。上図はx軸の説明変数のみによってy軸の応答が制限されていることを示す (それ以外の環境条件はy軸の値が最大となる「理想の状態」と仮定する)、下図では、x軸以外の (考慮されていない) 要因がy軸の応答を制限することによってばらつきが大きくなっている、しかしながら、高分位点を回帰することで説明変数のみの影響を抽出できる。(B) 分位点回帰の適用例。銅およびカドミウム濃度とEPT種数 (カゲロウ目, カワゲラ目, トビケラ目の分類群数の和) の相対値の関係。EPT種数は各調査の最大値を用いて標準化した値を解析に用いている、折れ線は分位点回帰モデル (95% タイル)、図下部にある直線は閾値 (安全濃度) の95% 信頼区間を示す。

た (AICによるモデル選択). 推定された安全濃度の95%信頼区間は大きく (図3B), その解釈には注意が必要であるが, 興味深いことに, 銅, カドミウム, 亜鉛の推定安全濃度は, 室内毒性試験結果から導出された各国の基準値等と概ね重複しており³¹⁾, 室内試験ベースの基準値の信頼性を補完する結果を野外データから提供することができたといえる. 他にも, 調査範囲は英国イングランドおよびウェールズと限定されているが, Crane *et al.* (2007)³²⁾ も底生動物調査結果から, 分位点回帰を用いて金属の安全濃度を推定している.

4. お わ り に

本稿では, 化学物質の生態影響評価において, 利用可能な手法を概観したうえで, 野外調査による影響評価方法の利点と欠点を説明した. 野外調査結果に基づく化学物質の生態影響評価は, その他の手法に比べてあまり実施されていないが¹⁵⁾, 適切な調査デザイン (例: 対象生物の生態を理解したうえでの丁寧な調査地点の選定) や, メタ解析および適切な統計手法 (本稿では, 分位点回帰) を用いることで, 濃度反応関係や安全濃度の推定に利用することができる. このような調査研究から得られる結果は, 室内試験ベースの生態リスク評価結果の信頼性を評価・補完できる有用な情報を提供できるため, 今後積極的に活用されるべきだろう.

最後に, 図3Bで紹介したような膨大な野外データは, 実は日本でも収集されているが, 有効活用されないままで眠っていることを強調しておきたい. 例えば, 地域レベルでは, 神奈川県川崎市では1979年から2011年までの間に川崎市内の110地点で魚類および底生動物調査が実施されている³³⁾. また, 国土交通省の河川水辺の国勢調査 (水国調査) では, 日本全国の一級水系109水系等を対象に魚介類調査, 底生動物調査, 植物調査, 鳥類調査, 両生類・爬虫類・哺乳類調査, 陸上昆虫類等調査が1990年度から実施されている. この水国調査では, 本稿で着目した底生動物では, 合計約1000地点において5年で1度は調査が行われるように実施されており, 調査結果自体は河川環境データベース³⁴⁾で公開されている. ただし, csv形式で落手できる生データを解析できるように整理するには少なくない労力が必要である. 一方で, 河川等における化学物質のモニタリングデータも, 公共用水域の環境基準地点等の全国約9000箇所で行われる水質測定結果 (環境数値データベース³⁵⁾) や国土交通省が所管する観測所における水質測定結果 (水文水質データベース³⁶⁾) がある. したがって, これらの生物および化学データと組み合わせることができれば, 野外での生態影響評価を実施することが可能であるが, 残念ながら, データベース間で調査地点の照合が進んでないことなどが障壁となり, そのような解析はほとんど行われていない. 今後は, このようなモニタリングデータの解析事例を増やしていくことも, 化学物質の生態影響評価において, 野外での生物調査データの活

用を増やして行くうえで重要なステップになるだろう.

謝 辞

本稿の執筆にあたり, 岩崎は平成26–30年度文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 (S1411016) の研究費によって支援された. 本シンポジウムのオーガナイザーである稲生圭哉先生, 井藤和人先生に感謝申し上げる.

引 用 文 献

- 1) EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues: *EFSA Journal* **11**, 3290 (2013).
- 2) G. E. Likens, F. H. Bormann, N. M. Johnson, D. W. Fisher and R. S. Pierce: *Ecol. Monogr.* **40**, 23–47 (1970).
- 3) D. W. Schindler: *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **66**, 1837–1847 (2009).
- 4) R. J. Hall, G. E. Likens, S. B. Fiance and G. R. Hendrey: *Ecology* **61**, 976–989 (1980).
- 5) H. V. Leland, S. V. Fend, T. L. Dudley and J. L. Carter: *Freshwater Biol.* **21**, 163–179 (1989).
- 6) T. F. Cuffney, J. B. Wallace and R. W. Jackson: *Freshwater Invertebr. Biol.* **3**, 153–171 (1984).
- 7) K. A. Kidd, P. J. Blanchfield, K. H. Mills, V. P. Palace, R. E. Evans, J. M. Lazorchak and R. W. Flick: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 8897–8901 (2007).
- 8) 岩崎雄一, 林 岳彦, 永井孝志: 環境毒性学会誌 **16**, 13–19 (2013).
- 9) S. Belanger, M. Barron, P. Craig, S. Dyer, M. Galay-Burgos, M. Hamer, S. Marshall, L. Posthuma, S. Raimondo and P. Whitehouse: *Integr. Environ. Assess. Manag.* (2016), in press.
- 10) 永井孝志: 農業環境技術研究所 技術マニュアル 農薬の生態リスク評価のための種の感受性分布解析 (2016) <http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/ssd/> (2016年11月14日閲覧)
- 11) L. Posthuma, G. W. I. Suter and T. P. Traas: "Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology," CRC Press, Boca Raton, FL, 2002.
- 12) Y. Iwasaki, K. Kotani, S. Kashiwada and S. Masunaga: *Environ. Sci. Technol.* **49**, 9326–9330 (2015).
- 13) K. D. Kimball and S. A. Levin: *Bioscience* **35**, 165–171 (1985).
- 14) S. A. Levin, K. D. Kimball, W. H. McDowell and S. F. Kimball: *Environ. Manage.* **8**, 375–442 (1984).
- 15) 岩崎雄一: 日本生態学会誌 **66**, 81–90 (2016).
- 16) 早坂大亮, 永井孝志, 五箇公一: 日本生態学会誌 **63**, 193–206 (2013).
- 17) W. H. Clements, P. Cadmus and S. F. Brinkman: *Environ. Sci. Technol.* **47**, 7506–7513 (2013).
- 18) D. W. Schindler: *Ecosystems (N.Y.)* **1**, 323–334 (1998).
- 19) S. R. Carpenter: *Ecology* **77**, 677–680 (1996).
- 20) L. A. Courtney and W. H. Clements: *Freshwater Biol.* **47**, 1766–1778 (2002).
- 21) H. Reynders, L. Bervoets, M. Gelders, W. M. De Coen and R. Blust: *Sci. Total Environ.* **391**, 82–95 (2008).
- 22) A. Stewart-Oaten, W. W. Murdoch and K. R. Parker: *Ecology* **67**, 929–940 (1986).

- 23) Y. Iwasaki, T. Kagaya, K. Miyamoto and H. Matsuda: *Water Air Soil Pollut.* **223**, 145–158 (2012).
- 24) Y. Iwasaki, T. Kagaya, K. Miyamoto and H. Matsuda: *Environ. Toxicol. Chem.* **28**, 354–363 (2009).
- 25) 中村太士 (編): 河川生態学, 川那部浩哉・水野信彦監, 講談社, 東京, 2013.
- 26) 岩崎雄一: 環境毒性学会誌 **14**, 47–56 (2011).
- 27) K. V. Brix, D. K. DeForest and W. J. Adams: *Sci. Total Environ.* **409**, 4187–4197 (2011).
- 28) Y. Iwasaki, T. Kagaya, K. Miyamoto, H. Matsuda and M. Sakakibara: *Environ. Toxicol. Chem.* **30**, 2237–2243 (2011).
- 29) B. S. Cade and B. R. Noon: *Front. Ecol. Environ.* **1**, 412–420 (2003).
- 30) T. S. Schmidt, W. H. Clements and B. S. Cade: *Freshwater Sci.* **31**, 709–723 (2012).
- 31) Y. Iwasaki and S. J. Ormerod: *Environ. Pollut.* **166**, 182–186 (2012).
- 32) M. Crane, K. W. H. Kwok, C. Wells, P. Whitehouse and G. C. S. Lui: *Environ. Sci. Technol.* **41**, 5014–5021 (2007).
- 33) 小林弘明, 岩渕美香: 川崎市環境総合研究所年報 **1**, 85–92 (2013).
- 34) <http://mizukoku.nilim.go.jp/ksnkankyo/> (2016年11月14日閲覧)
- 35) <http://www.nies.go.jp/igreen/> (2016年11月14日閲覧)
- 36) <http://www1.river.go.jp/> (2016年11月14日閲覧)

略 歴

岩崎雄一 (いわさき ゆういち)

生年月日: 1982年2月1日

最終学歴: 横浜国立大学大学院環境情報学府博士課程後期修了

研究テーマ: 金属の生態リスク評価

趣味: 現代アート・演劇鑑賞など (<息子)